

Adrián Ignacio Castillo Antón

**Infeção por HPV e desenvolvimento de Carcinoma de Orofaringe:
aspectos moleculares e patológicos - revisão narrativa**



Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2024

Adrián Ignacio Castillo Antón

Infeção por HPV e desenvolvimento de Carcinoma de Orofaringe: aspetos
moleculares e patológicos - revisão narrativa

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde
Porto, 2024

Adrián Ignacio Castillo Antón

Infeção por HPV e desenvolvimento de Carcinoma de Orofaringe: aspetos moleculares e patológicos - revisão narrativa

Dissertação apresentada à Universidade Fernando Pessoa
como parte dos requisitos para obtenção do grau
de mestre em Medicina Dentária

(Adrián Ignacio, Castillo Antón)

DEDICATORIA

Dedico esta dissertação à minha família, cujo amor e apoio incondicional têm sido a minha maior fonte de força e motivação. Obrigado por estarem sempre ao meu lado em cada passo deste caminho.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar o meu mais sincero agradecimento às minhas orientadoras, Inês Lopes Cardoso e Ana Moura Teles, pela sua orientação, paciência e apoio ao longo de todo o processo de elaboração desta tese. O seu conhecimento e experiência foram fundamentais para a realização deste trabalho, e a sua dedicação e compromisso inspiraram-me profundamente. Obrigado por acreditarem em mim e por me fornecerem as ferramentas necessárias para alcançar este objetivo

RESUMO

Objetivo: O objetivo do trabalho é uma revisão atualizada baseada nos conhecimentos disponíveis do HPV e sua relação com as lesões na cavidade oral, especialmente o carcinoma oral e orofaríngeo.

Metodologia: Realizou-se uma pesquisa bibliográfica em duas bases de dados: PubMed e B-On, com critérios de elegibilidade (escrita na língua inglesa, francesa, espanhola ou portuguesa; data de publicação entre 2018 e 2023, acesso total livre aos artigos do tema).

Resultados: Partindo de 9359 artigos nas bases de dados, 11 foram selecionados para análise dos respetivos objetivos, materiais e métodos e resultados obtidos.

Conclusões: Identificar precocemente lesões orais é essencial, sendo para isso necessário o controlo regular por especialistas em pacientes de risco. Fatores como comportamento sexual, tabagismo e consumo de álcool aumentam o risco de cancro de orofaringe. Diferentes tipos de HPV causam lesões específicas na boca. O HPV-16 é responsável pela maioria dos cancros da orofaringe. As vacinas contra o HPV são eficazes na prevenção tanto do cancro de orofaringe como dos cancros urogenitais.

Nas últimas décadas, a quantidade de informação sobre o HPV e seu potencial oncogénico tem crescido consideravelmente.

Palavras-chave: HPV; carcinoma da orofaringe; cancro oral HPV; papillomavirus; manifestações na cavidade oral; vacinas contra HPV

ABSTRACT

Objective: The aim of the study is to provide an updated review based on the available knowledge about HPV and its relationship with lesions in the oral cavity, especially oral and oropharyngeal carcinoma.

Methodology: A bibliographic search was conducted in two databases: PubMed and B-On, with eligibility criteria (articles written in English, French, Spanish, or Portuguese; publication date between 2018 and 2023, full open access to articles on the topic).

Results: Out of 9359 articles in the databases, 11 were selected for analysis of objectives, materials, methods, and results.

Conclusions: Early identification of oral lesions is essential, being required regular check-ups by specialists in high-risk patients. Factors such as sexual behavior, smoking, and alcohol consumption increase the risk of oropharyngeal cancer. Different types of HPV cause specific lesions in the mouth. HPV-16 is responsible for most oropharyngeal cancers. HPV vaccines are effective in preventing both oropharyngeal and urogenital cancers.

In recent decades, the amount of information about HPV and its oncogenic potential has grown considerably.

Keywords: HPV; oropharyngeal carcinoma; HPV oral cancer; papillomavirus; manifestations in the oral cavity; HPV vaccines

INDICE GERAL

I. Introdução.....	1
1. Materiais e métodos.....	4
II. Desenvolvimento.....	7
1. Infeção por HPV.....	7
2. HPV e Cancro Oral.....	10
3. Manifestações Oraís.....	12
3.1. Lesões Oraís Benignas.....	12
3.2. Alterações oraís potencialmente malignas.....	17
3.3. Lesões Malignas.....	19
4. Relação do HPV com cancro da orofaringe.....	20
4.1. Epidemiologia.....	20
4.2. Sinais e sintomas.....	22
4.3. Fatores de risco.....	23
4.4. Diagnóstico.....	24
4.5. Prevenção.....	27
4.6. Estratégias terapêuticas.....	36
III. Discussão.....	39
IV. Conclusões.....	41
Bibliografia.....	44

INDICE DE FIGURAS

Figure 1. Diagrama PRISMA Flow.....	6
Figure 2. Diagrama do genoma do HPV-16.....	8

INDICE DE TABELAS

Tabela 1. Estratégia de pesquisa utilizada em cada base de dados.....	4
Tabela 2. Critérios de elegibilidade.....	4
Tabela 3. Proteínas codificadas no genoma de HPV e funções associadas.....	9
Tabela 4. Lesões Orais Benignas.....	17
Tabela 5. Alterações orais potencialmente malignas.....	21
Tabela 6. Classificação do diagnóstico laboratorial de infeções por HPV.....	27

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACIP: Comité de Aconselhamento sobre Práticas de Imunização (do inglês *Advisory Committee on Immunization Practices*)

ASC: Células Escamosas Atípicas (do inglês *Atypical Squamous Cells*)

ASC-H: Células Escamosas Atípicas - lesão de alto nível (do inglês *Atypical Squamous Cells – High Grade Lesion*)

ASC-US: Células Escamosas Atípicas de significado indeterminado (do inglês *Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance*)

CA: Condiloma Acuminado

CCEO: Carcinoma de Células Escamosas Oral

CCE: Carcinoma de Células Escamosas

CDC: Centro de Controlo e Prevenção de Doenças (do inglês *Centers for Disease Control and Prevention*)

CIN: Neoplasia Cervical Intraepitelial (do inglês *Cervical Intraepithelial Neoplasia*)

CS: Síndrome de Cowden (do inglês *Cowden Syndrome*)

dCMP: Desoxicitidina Monofosfato

E2F: proteína fator de transcrição precoce 2 (do inglês *Early 2 Factor*)

FCG: Fibroma de Células Gigantes

FDA: Administração de Alimentos e Drogas (do inglês *Food and Drug Administration*)

FEH: Hiperplasia Epitelial Focal ou doença de Heck (do inglês *Focal Epithelial Hyperplasia*)

HGSIL: Lesão Intraepitelial Escamosa de alto grau (do inglês *High Grade Squamous Intraepithelial Lesion*)

HIV: Vírus da Imunodeficiência Humana (do inglês *Human Immunodeficiency Virus*)

HNC: Cancro cabeça e pescoço (do inglês *Head and Neck Cancer*)

HNSCC: Carcinoma de Células Escamosas da cabeça e pescoço (do inglês *Head and Neck Squamous Cell Carcinoma*)

HPV: Papilomavírus humano (do inglês *Human Papillomavirus*)

HSPG: Proteoglicanos de sulfato de heparano (do inglês *Heparan Sulfate Proteoglycans*)

IARC: Agência Internacional de Investigação em Cancro (do inglês *International Agency for Research on Cancer*)

IST: Infecções Sexualmente Transmissíveis

IVAA: Inspeção Visual com Ácido Acético

LGSIL: Lesão Intraepitelial Escamosa de baixo grau (do inglês *Low Grade Squamous Intraepithelial Lesion*)

MEN2B: Neoplasia Endócrina Múltipla tipo 2B (do inglês *Multiple Endocrine Neoplasia type 2B*)

NF1: Neurofibromatose tipo 1

OMS: Organização Mundial da Saúde

OPSCC: Carcinoma de Células Escamosas da Orofaringe (do inglês *Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma*)

PCR: Reação em cadeia da polimerase (do inglês *Polymerase Chain Reaction*)

PeIN: Neoplasias Intraepiteliais Penianas (do inglês *Penile Intraepithelial Neoplasia*)

P-SCC: Carcinoma Escamoso Papilar (do inglês *Papilar Squamous Cell Carcinoma*)

SIL: Lesão Escamosa Intraepitelial (do inglês *Squamous Intraepithelial Lesion*)

VIN: Neoplasia Intraepitelial Vulvar (do inglês *Vulvar Intraepithelial Neoplasia*)

VLP: Partícula semelhante a vírus (do inglês *Virus-Like Particles*)

VV: Verruca Vulgaris

VX: Xantoma Verruciforme

I. Introdução

Com cerca de 400.000 novos casos diagnosticados a cada ano, os carcinomas da cabeça e pescoço são o sexto tipo de cancro mais comum a nível mundial, sendo 90% destes casos, carcinomas de células escamosas (CCE) (Augustin et al., 2020).

O tabaco e o álcool estão entre os fatores de risco mais conhecidos para o carcinoma da cabeça e pescoço. No entanto, nas últimas décadas, tem havido um aumento da preocupação quanto à relação entre o carcinoma da orofaringe e a infeção por Papilomavírus humano (HPV), especialmente em países com altos rendimentos (Augustin et al., 2020).

O HPV pertence a uma família de vírus que se originou há 300 milhões de anos no Paleozoico e há 90 milhões de anos desenvolveu um elevado tropismo pelas mucosas (Syrjänen, 2018).

O HPV é um vírus de DNA circular de cadeia dupla com cerca de 8.000 pares de bases. O genoma deste vírus possui diversos genes que codificam várias proteínas necessárias para o ciclo de vida do vírus e interação com células hospedeiras (Yakin et al., 2019). É um vírus com ampla diversidade genética e alta especificidade para o ser humano que pode infetar a pele e as membranas das mucosas humanas. Uma das infeções sexualmente transmissíveis (ISTs) mais prevalentes no mundo é a causada por HPV. Até à data, foram descritas mais de 441 estirpes distintas de HPV. Foram descritos 5 géneros de papilomavírus de acordo com a homologia da sequência de DNA no gene L1 que codifica a proteína da cápside L1: alfa (66 tipos), beta (67 tipos), gama (302 tipos), mu (5 tipos) e nu (1 tipo). Os tipos alfa infetam epitélios cutâneos e mucosas e são subdivididos em grupos de alto risco ou baixo risco, de acordo com a frequência com que estão associados ao cancro (Hasche & Akgül, 2023).

Os serotipos virais oncogénicos mais prevalentes do HPV são o HPV-16 que está associado a cancros vaginais, orofaríngeos, cervicais e anais (Fiorillo et al., 2021). O cancro do colo do útero e outras malignidades anogenitais estão associados ao HPV-18. Devido à forte correlação com o cancro do colo do útero e outras patologias

relacionadas ao HPV, o HPV-16 e o HPV-18 são especialmente importantes, sendo que a sua deteção precoce, imunização e rastreio, permitem abordagens preventivas essenciais na luta contra os cancros associados a estes serotipos oncogénicos do HPV (Maelle et al., 2021). Frequentemente, o sistema imunitário elimina as infeções por HPV, no entanto, por vezes, infeções de alto risco podem causar cancro se não forem controladas (Radzki et al., 2022).

Variedades adicionais de alto risco incluem o HPV-31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 68, que foram associadas a outros tipos de cancro (Fiorillo et al., 2021).

Geralmente, as estirpes de HPV de baixo risco, como HPV-6 e HPV-11, não estão associadas a cancro, mas podem provocar verrugas na pele, nos órgãos genitais ou no pescoço ou originar papilomatose respiratória (Fiorillo et al., 2021).

A principal forma de transmissão do HPV é através de contacto sexual, que inclui sexo oral, anal e vaginal. Além disso, o contacto mucosa-a-mucosa aumenta a probabilidade de propagação deste vírus, especialmente na área vaginal. Como frequentemente as infeções por HPV não apresentam sintomas, o indivíduo pode não estar ciente de ter o vírus. Prevenir a infeção por HPV e, conseqüentemente, os cancros relacionados com este vírus, pode, em parte, ser alcançado através da adoção de comportamentos sexuais seguros, vacinação contra o vírus e rastreio regular (Milano et al., 2023).

Muitas lesões na cavidade oral, com ênfase na orofaringe, têm sido associadas à infeção por HPV. As lesões na cavidade oral mais frequentes associadas à infeção por HPV incluem o Carcinoma de Células Escamosas da Orofaringe (OPSCC). De facto, a infeção por HPV é um fator de risco conhecido para OPSCC, especialmente com estirpes de alto risco como o HPV-16. Tendo características clínicas e moleculares particulares, o OPSCC positivo para HPV é um subtipo distinto de cancro da cabeça e pescoço. Os locais onde este tipo de cancro surge em primeiro lugar são as amígdalas, a base da língua e outras áreas orofaríngeas (Chaturvedi et al., 2022).

Outras das alterações frequentes provocadas por HPV são as verrugas orais, que podem desenvolver-se nos lábios, língua, palato e outras superfícies mucosas na cavidade oral. Estas verrugas são consideradas lesões benignas e são, geralmente, causadas por estirpes de HPV de baixo risco. No entanto, em pessoas imuno-comprometidas, estas verrugas podem persistir ou voltar a surgir (Fiorillo et al., 2021).

Os papilomas orais, também podem surgir por infeção por HPV, sendo, neste caso, crescimentos epiteliais benignos na mucosa oral. Estas lesões aparecem como pequenos nódulos elevados com uma superfície áspera e, tipicamente, assintomáticos (Fiorillo et al., 2021).

Diversos estudos apontam para uma possível ligação entre a infeção por HPV e a leucoplasia oral, uma mancha ou placa branca não removível que pode ser um sinal de tecido potencialmente maligno. (Fiorillo et al., 2021).

Tendo em conta tudo isto, a infeção pelo HPV tem sido associada a uma variedade de lesões na cavidade oral. No entanto, foi observada uma correlação mais forte com malignidades orofaríngeas, especialmente OPSCC. Compreender a ligação entre o HPV e as lesões orais é essencial para a identificação precoce, avaliação de risco e elaboração de planos de tratamento personalizados para indivíduos com doenças orais associadas ao HPV (Ferris & Westra, 2023).

Assim, o objetivo deste trabalho é fazer uma revisão de literatura atualizada focada nos conhecimentos disponíveis sobre o HPV e sua relação com as lesões na cavidade oral, especialmente o carcinoma oral e de orofaringe. O que é novo neste estudo reside na importância presente e, sobretudo, futura que a carcinogénese viral terá na saúde humana.

A escolha deste tema prende-se com a expectativa de crescimento desta patologia que supera qualquer outra, dada a evolução atual das IST e as suas implicações presentes e futuras na saúde pública. A divulgação deste tema pode influenciar a prevenção e o controlo de uma situação clínica tão importante como é a carcinogénese viral nos tumores de orofaringe.

1. Materiais e métodos

Realizou-se uma pesquisa bibliográfica em duas bases de dados: PubMed e B-On, tendo sido usadas as palavras-chave: HPV; oropharyngeal carcinoma; HPV oral cancer; papillomavirus; manifestations in the oral cavity; HPV vaccines. Estas palavras-chave

foram selecionadas estrategicamente e combinadas utilizando os operadores booleanos “AND” (Tabela 1).

Tabela 1. Estratégia de pesquisa utilizada em cada base de dados.

Base de dados	Estratégia de pesquisa
PubMed	- “papillomavirus” AND “manifestations in the oral cavity” - “oropharyngeal carcinoma” AND “HPV”
B-on	- “HPV” AND “manifestations in the oral cavity” AND “oropharyngeal carcinoma”

Com base na estratégia de pesquisa anteriormente mencionada, foi encontrado um total de 9359 artigos.

Critérios de elegibilidade

Em segundo lugar, para especificar o tipo de artigo para uma análise mais detalhada - os critérios de elegibilidade -, foram definidos critérios de inclusão e de exclusão (Tabela 2).

Tabela 2. Critérios de elegibilidade.

Critérios de inclusão	Critérios de exclusão
-Idioma: Francês, Espanhol, Inglês e Português -Data: 2018 a 2023 -Artigos que abordam integralmente o tema em questão -População de interesse: pessoas adultas - Acesso ao texto integral	-Artigos de case report -Artigos que apenas abordem uma terapia -Artigos que abordem cirurgia, quimioterapia ou radioterapia

Recolha de dados

Após a definição dos critérios de inclusão e exclusão, os critérios de elegibilidade foram aplicados aos 9359 artigos identificados. No primeiro passo, de forma sequencial, os duplicados foram eliminados para que, posteriormente, os artigos restantes fossem selecionados com base no idioma, data e acesso ao resumo. Após esta seleção, os títulos dos artigos identificados foram lidos para compreender quais cumpriam os critérios de inclusão. Mais concretamente, num penúltimo passo, os artigos restantes foram avaliados através da leitura dos seus resumos. Os artigos remanescentes foram analisados na sua totalidade para determinar quais seriam incluídos e quais seriam excluídos. Isso foi feito após a leitura do texto completo dos artigos previamente selecionados (Figura 1).

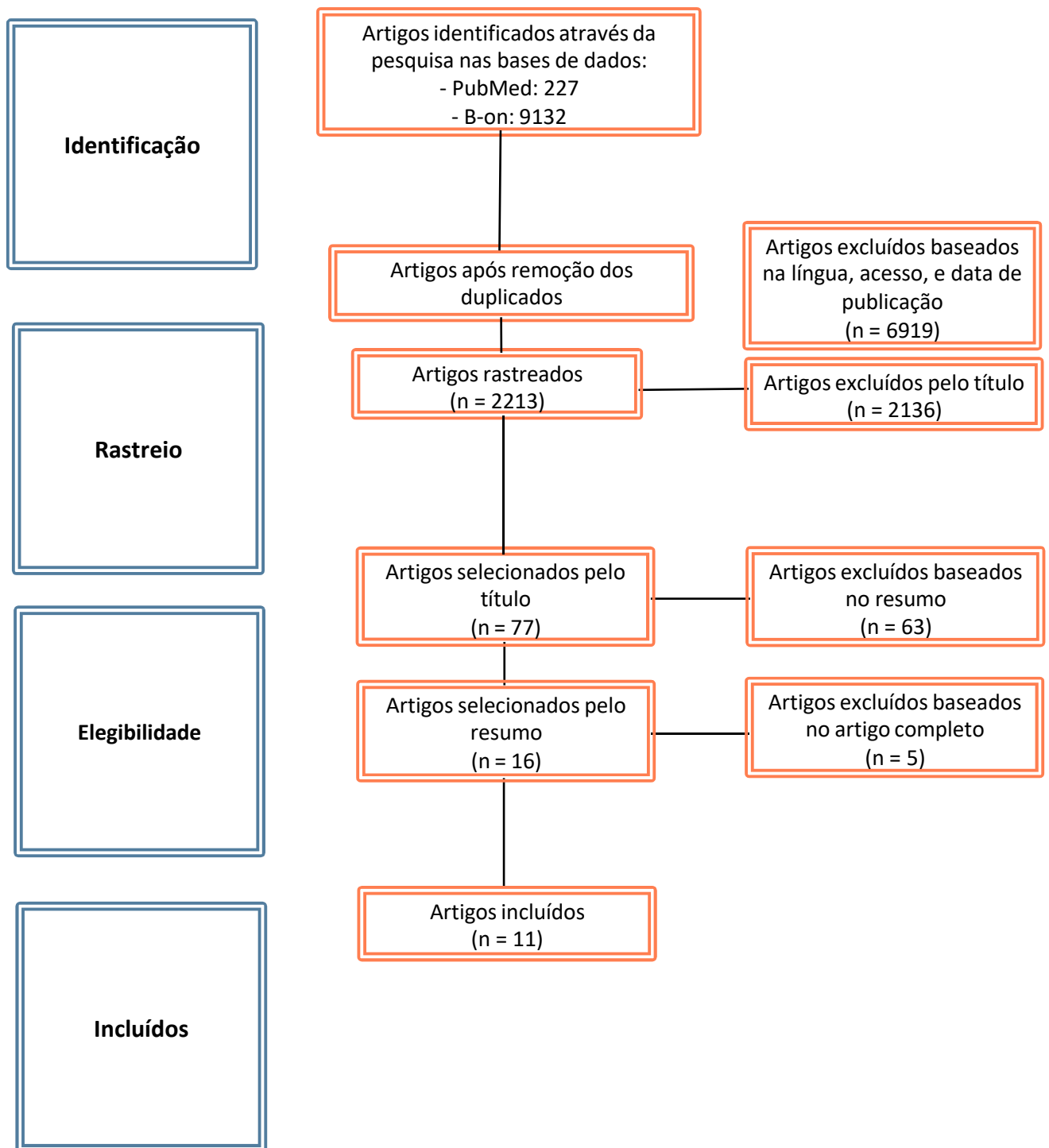


Figure 1. Diagrama PRISMA Flow.

II. Desenvolvimento

1. Infeção por HPV

O HPV espalha-se através do contacto, permitindo a sua propagação entre as células epiteliais, mas não se sabe por que razão certos tipos deste vírus escolhem a pele das mãos ou dos pés como alvo, enquanto outros atacam as células que revestem a mucosa da boca e outros infetam os órgãos genitais, masculinos e femininos (Nøhr et al., 2019).

Embora haja pouca informação sobre a fisiologia do HPV, os investigadores sabem muito sobre a sua biologia viral. O genoma deste vírus (Figura 2) possui oito genes classificados como precoces (E – *early*) ou tardios (L – *late*) dependendo do momento em que são expressos no ciclo de vida viral. Os genes E1 e E2, regulam a transcrição e a replicação do genoma viral. A função do gene E4 ainda é desconhecida, mas pensa-se que promova a fase produtiva do ciclo de vida do vírus do papiloma. O gene E5 torna a atividade do fator de crescimento epidérmico mais eficiente. A transcrição dos genes e o ciclo celular da célula hospedeira são controlados pelos genes E6 e E7, cuja função é inibir os supressores tumorais como p53 e pRb que regulam o ciclo celular e a apoptose, o que conduz a um risco elevado (Nøhr et al., 2019) (Tabela 3).

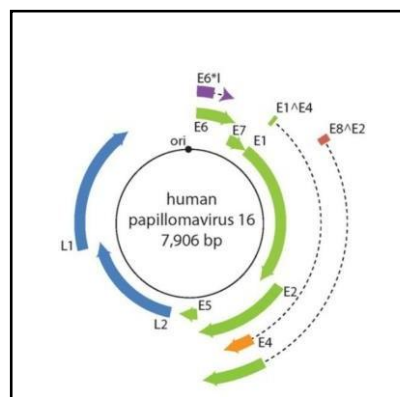


Figure 2. Diagrama do genoma do HPV-16

Figure 2. Diagrama do genoma do HPV-16. O DNA cadeia dupla viral está representado pelo círculo preto. As caixas seta externas (coloridas) indicam os quadros de leitura aberta que codificam proteínas. As linhas pontilhadas representam sequências de intrões. O ponto preto representa a origem de replicação viral (ori) (Van Doorslaer et al., 2018).

As proteínas da cápside viral utilizadas na formação de novos vírus são codificadas pelos genes tardios L1 e L2. A proteína L1 é mais abundante e a sua função é reconhecer os recetores da célula hospedeira, enquanto a proteína L2 participa na entrada do vírus na célula hospedeira e participa na libertação do genoma viral no núcleo da célula, sendo responsável pela montagem de novos vírus (Nøhr et al., 2019) (Tabela 3).

As partículas virais infetam as células basais do epitélio que ficam expostas através de microabrasões ou pequenas feridas epiteliais. Não se conhece completamente o mecanismo de entrada do HPV na célula hospedeira, mas foi demonstrado que, na membrana basal, o HPV-16 se une à lâmina 332 e aos proteoglicanos de sulfato de heparano (HSPG), ativando os recetores do fator de crescimento através da formação do complexo fator de crescimento-HSPG-HPV-16, desencadeando, posteriormente, a endocitose. O vírus circula pelo sistema endolisossómico e a proteína viral principal da cápside L1 dissocia-se do complexo genómico viral. A proteína da cápside menor L2 medeia a entrega do genoma viral ao núcleo da célula epitelial. Posteriormente, surgem agregados multiproteicos intercromossómicos que são o passo crítico no estabelecimento da infeção ativa pelo HPV-16 (Van Doorslaer et al., 2018).

Tabela 3. Proteínas codificadas no genoma de HPV e funções associadas

Tipo de proteína	Nome	Funções ou atividades associadas
Não estruturais	E1	Funções de helicase. Essencial para a replicação e transcrição.
	E2	Essencial para a replicação e transcrição viral e segregação genómica.
	E4	Regula a expressão de genes tardios, controla a maturação viral e a saída dos novos vírus.
	E5	Estimula a atividade transformante de E6 e E7, promove a fusão celular gerando aneuploidia e instabilidade cromossómica, contribui para a evasão da resposta imunitária.
	E6	Liga-se e induz a degradação da proteína p53, inibindo a apoptose; interage com proteínas do sistema imunitário inato, contribuindo para a evasão da resposta imunitária e para a persistência do vírus; ativa a expressão da telomerase.
	E7	Liga-se e induz a degradação da proteína pRB; aumenta a atividade de cinases dependentes de ciclinas; afeta a expressão dos genes na fase S por interação direta com os fatores de transcrição E2F e com a histona desacetilase; contribui para a evasão da resposta imunitária.
Estruturais	L1	Principal proteína da cápside. Reconhece recetores na célula hospedeira. É altamente imunogénica e induz anticorpos neutralizantes.
	L2	Proteína secundária da cápside. Participa na ligação do vírus à célula, na penetração e transporte para o núcleo, na libertação do genoma e na montagem dos componentes dos novos vírus.

Em alguns papilomavírus, existem dois genes extra que codificam as proteínas E3 e E8, cujas funções ainda são desconhecidas (Harden e Munger, 2017).

A persistência viral e a progressão para doenças neoplásicas associadas ao HPV são possíveis, uma vez que os genótipos de alto risco desenvolveram vários mecanismos para evitar a resposta imune do hospedeiro. Uma das primeiras estratégias para evitar a sua detecção é manter um perfil muito baixo. O ciclo de vida do HPV é exclusivamente intraepitelial e não lítico, evitando, assim, o sinal pró-inflamatório associado. Como resultado, o recrutamento de células apresentadoras de antígeno, como as células de Langerhans, e a libertação de citocinas que medeiam a resposta imune estão ausentes ou são muito baixas após a infeção por HPV (Van Doorslaer et al., 2018). Outros mecanismos de evasão imunológica deste vírus incluem a regulação da sinalização do interferão, a inibição das células de Langerhans pela atividade dos genes E6 e E7, a inibição das

moléculas de adesão e a modulação das vias de sinalização intracelular (Van Doorslaer et al., 2018).

O HPV é um vírus que causa infeção em células epiteliais das mucosas e cutâneas, com mais de 441 genótipos organizados de acordo com as variações nas sequências de DNA. Estes genótipos estão divididos em subgrupos, nomeadamente subgrupo alfa e beta que infetam, respetivamente, epitélios mucosos e cutâneos. O HPV pode ser transmitido horizontalmente entre pessoas, através de atividades sexuais ou não sexuais, como contato através das mucosas. O HPV oral foi encontrado em recém-nascidos, facto que comprova que o vírus pode ser transmitido, de mãe para filho, via placenta, e que indica que também pode ser transmitido intra-uterinamente ou durante o parto. Além disso, vários mecanismos de transmissão oral foram identificados, nomeadamente, auto-inoculação, exposição a objetos inertes contaminados e relações sexuais (Radzki et al., 2022).

Aproximadamente 3% destas infeções orais causam lesões na cavidade oral. É importante realçar que a HPV oral pode afetar crianças e adultos, havendo fatores de risco e mecanismos de transmissão diferentes para cada faixa etária (Milano et al., 2023).

2. HPV e Cancro Oral

A boca é muito semelhante à vagina e ao colo do útero em termos celulares, uma vez que possui o mesmo tipo de células epiteliais. Embora a saliva e os tecidos com maior queratinização possam proteger contra a infeção por HPV, esta é afetada comparativamente com outros epitélios. A maioria dos cancros orais são carcinomas de células epiteliais, principalmente carcinomas de células escamosas. Esta situação é semelhante à que ocorre com os cancros que afetam o colo do útero (Augustin et al., 2020).

A importância da infeção por HPV na carcinogénese oral reside na capacidade do vírus de imortalizar os queratinócitos orais, o que inclui: a inativação das proteínas supressoras de tumores preexistentes pelas oncoproteínas virais; o bloqueio da transcrição de genes supressores de tumores como resultado da inserção do oncogene do HPV; ou a estimulação da transcrição de oncogenes celulares pela inserção de sequências virais.

Desta forma, o aparecimento de carcinomas epidermóides na cavidade oral pode estar relacionado com uma infeção de queratinócitos por HPV de alto risco (Milano et al., 2023).

A faceta ameaçadora do HPV é o seu risco de provocar cancro. A divisão celular normal é controlada por dois genes, Rb e p53. A proteína Rb está envolvida na produção de fatores de transcrição necessários para o decorrer do ciclo celular. A Rb é uma proteína supressora de tumor que impede a divisão celular até que estejam presentes as proteínas necessárias para permitir a divisão celular, como por exemplo a proteína E2F (*early 2 factor*) (Van Doorslaer et al., 2018). A proteína E2F pertence a uma família de fatores de transcrição que controlam a transição G1/S do ciclo celular, regulando a altura em que os genes do ciclo celular são expressos. Esta proteína regula, ainda, a apoptose, diferenciação e respostas ao stress (Chan et al., 2020).

Quando o HPV infeta uma célula epitelial, tanto da cavidade oral como do colo do útero, o gene E7 expressa-se precocemente, inibindo os supressores tumorais Rb e p53, alterando o ciclo celular e gerando uma divisão celular descontrolada, sendo, esta, uma característica da degeneração maligna (Van Doorslaer et al., 2018).

O outro gene que é afetado pela infeção por HPV é o que codifica a proteína p53. A proteína p53 atua numa célula em resposta à existência de DNA danificado, ativando genes envolvidos na reparação do DNA de modo a corrigir os danos presentes neste. Caso o DNA não possa ser reparado, a p53 induz a apoptose (morte celular programada), garantindo que a célula danificada morra e não se reproduza (Milano et al., 2023). Em células tumorais, a p53 encontra-se frequentemente danificada ou não funcional. Assim sendo, células com DNA danificado ou alterado conseguem sobreviver evitando a sua destruição. A proteína E6 viral tem a capacidade de se ligar à p53 e inativá-la (Milano et al., 2023). Uma vez que a proteína p53 se encontra inibida pelo vírus, esta não consegue detê-lo ou iniciar o processo de morte celular e, deste modo, o vírus pode apropriar-se da célula e reproduzir-se. Isto explica a formação de tumores malignos que começa com a replicação repetida de células com material genético danificado. A proteína E6 viral não só bloqueia o gene p53 celular, inibindo a apoptose, como também interage com as proteínas do sistema imunitário inato, contribuindo para a evasão da resposta imunitária e, portanto, para a persistência do vírus. Também ativa a telomerase, enzima responsável

pela replicação das sequências repetitivas presentes nos telómeros. A ativação desta enzima mantém um ciclo repetido de células que continua a gerar células virais. A divisão contínua das células mutantes que continuam a reproduzir-se sem controlo, conduz ao cancro (Milano et al., 2023).

Os dois serotipos mais prejudiciais, HPV-16 e HPV-18, possuem proteínas E6 e E7 muito fortes o que lhes permite reproduzirem-se rapidamente e em grandes quantidades, conduzindo à proliferação descontrolada das células contendo vírus e, finalmente, ao cancro. Os HPV-16 e HPV-18 estão claramente associados ao cancro do colo do útero (Pimple & Mishra, 2022).

De acordo com muitos estudos, o álcool e o tabaco estão ligados ao cancro oral. Descobriu-se que o consumo de tabaco e de álcool está relacionado com 87% dos casos de carcinoma escamoso oral. Em 50% destes casos foi encontrada uma ligação com o HPV. Em 69% dos pacientes que consumiam tabaco e álcool, e em 29% dos pacientes que não consumiam, houve uma associação com carcinoma escamoso oral (Elhalawani et al., 2020). Esta relação está associada com o efeito do etanol presente nas bebidas alcoólicas na inibição da produção da proteína p53 (Elhalawani et al., 2020). Mais ainda, os carcinogénios presentes no tabaco alteram o DNA celular, facto que pode levar ao cancro. Deste modo, a combinação de tabaco e álcool com o HPV e as células epiteliais da boca pode criar a combinação ideal para o desenvolvimento de cancro oral (Elhalawani et al., 2020).

Para avaliar a influência do HPV no desenvolvimento do cancro oral, é crucial conhecer a prevalência do vírus na mucosa oral saudável. Considerando que o intervalo de deteção varia consideravelmente dependendo do autor (de 0 a 81%), a frequência do HPV no cancro oral varia de 30 a 80% (Pimple & Mishra, 2022).

A maioria dos carcinomas escamosos bucais tem os serotipos HPV-16 e HPV-18 (80%), enquanto os genótipos HPV-31, 33 e 35 são menos comuns (3%).

3. Manifestações Orais

3.1. Lesões Orais Benignas

Verruga Vulgar

A verruga vulgar, também conhecida como Verruga Vulgaris (VV), é a condição patológica mais comum causada por HPV, representando cerca de 70% de todas as verrugas. Afeta principalmente adolescentes com idade compreendida entre 12 e 16 anos, e 10% em crianças. É mais comum na área periungueal das mãos, mas pode aparecer em qualquer parte da pele (Fiorillo et al., 2021). Como apresentado na Tabela 4, as verrugas intraorais têm formações exofíticas e são lesões rosadas a brancas, sésseis e geralmente menores que um centímetro. As células coilocíticas, ou em forma de cebola, correspondem a células escamosas que têm, no seu interior, quantidade abundante de vírus. Por sua vez, existe acantose e características verrucosas que estão associadas ao HPV, quando examinadas histologicamente e que correspondem aos serotipos HPV-2 e HPV-4 (Fiorillo et al., 2021).

Lesões papilares benignas, como o xantoma verruciforme (VX) e a papilomatose, e variantes potencialmente malignas do carcinoma de células escamosas, como a hiperplasia verrucosa e o carcinoma verrucoso, podem ser usadas no diagnóstico diferencial com a VV (Radzki et al., 2022). Resumidamente, a verruga vulgar intraoral apresenta características clínicas e histológicas distintas que são essenciais para o diagnóstico e tratamento clínico adequados.

Papiloma Escamoso

O papiloma escamoso (PE) é uma lesão epitelial, oral, benigna, comum tanto em crianças quanto em adultos. Caracteriza-se por projeções exofíticas conhecidas como "dedos" ou "couves-flor", e papilares, com células coilocíticas e epitélio superficial relativamente macio, que são características do HPV. A relação entre o PE e a infeção por HPV dos serotipos HPV-6 e HPV-1 encontra-se descrita (Fiorillo et al., 2021) (Tabela 4).

Várias entidades podem ser usadas para o diagnóstico diferencial, incluindo VV, VX, condiloma acuminado (CA), fibroma de células gigantes (FCG) e carcinoma escamoso papilar (P-SCC). A VV é séssil e apresenta uma inversão das cristas dérmicas, mas o PE, geralmente, é pedunculado. A presença de células xantomatosas e de paracراتina alaranjada num VX também permite distingui-lo do PE. O CA é geralmente maior e está presente em vários locais (Fiorillo et al., 2021).

O PE pode, ocasionalmente, ser confundido com o P-SCC, uma variante rara de carcinoma de células escamosas, pois ambos têm crescimento papilar com fronteiras exofíticas. Contudo, o P-SCC tem características malignas, como pleomorfismo e maturação desordenada, que o distinguem do PE. A invasão fora da membrana basal também distingue o P-SCC do PE, embora nem sempre seja visível (Fiorillo et al., 2021).

Portanto, o PE é uma lesão oral benigna comum que se distingue pelos sinais clínicos e características histológicas. O diagnóstico diferencial é essencial para a identificação e tratamento clínico adequados (Kombe et al., 2021).

Condiloma Acuminado

O CA, também conhecido como verruga anogenital, é a infeção sexualmente transmissível mais prevalente no Reino Unido e nos Estados Unidos. Embora sejam raras, estas feridas também podem ocorrer na cavidade oral. A maioria das vezes, afeta os adultos, encontrando o maior número de casos no terceiro e quarto ano de vida (Fiorillo et al., 2021).

O clínico pode ver o CA como uma única lesão ou várias, algumas das quais podem fundir-se para formar crescimentos maiores. A cor destas lesões varia de rosa a branca e pode ser pedunculada ou séssil, com uma textura semelhante à de uma couve-flor. Ao microscópio, observa-se uma arquitetura papilar exofítica com vilosidades e moderada a marcada acantose. A camada espinhosa superior tem coilocitos, e tem sido descrita nos serotipos HPV-6 e HPV-7 (Milano et al., 2023) (Tabela 4).

Lesões como PE, VX e P-SCC podem ser usadas no diagnóstico diferencial. A VX tem células xantomatosas e paracراتina alaranjada, enquanto o PE é geralmente mais

pequeno, solitário e pedunculado. É possível que seja difícil distinguir o CA do P-SCC porque têm semelhanças na arquitetura e tamanho. No entanto, o P-SCC geralmente aparece na gengiva e é mais comum em pacientes mais velhos. As características citológicas malignas e/ou invasões distinguem essas entidades. A hiperplasia epitelial multifocal (HEM), que é mais comum em crianças e não apresenta características histológicas distintas no CA, também pode ser considerada em casos de múltiplos CA (Milano et al., 2023).

Hiperplasia Epitelial Focal (FEH) ou Doença de Heck

A FEH, também conhecida como doença de Heck, um transtorno familiar benigno com herança autossômica recessiva, é uma doença papulonodular geralmente pediátrica, que afeta a mucosa da cavidade oral nas bochechas e nos lábios, mais frequentemente o lábio inferior. Esta doença foi documentada pela primeira vez em povos latino-americanos (Fiorillo et al., 2021). No entanto, a primeira publicação em inglês sobre o problema relatou estas lesões em esquimós e crianças nativas do Alasca (Fiorillo et al., 2021). É curioso que relatos de lesões semelhantes em povos indígenas da Gronelândia remontam ao século XIX. Alguns casos foram relatados em todo o mundo desde essas descobertas iniciais, incluindo em idosos e pacientes com SIDA, mas a doença é mais comum em crianças indígenas das Américas (Fiorillo et al., 2021).

A suscetibilidade genética a esta doença foi associada ao subtipo do antigénio leucocitário humano HLA-DR4. Isto pode explicar porque a doença é mais comum em áreas endémicas e tem maior probabilidade de afetar várias famílias (Fiorillo et al., 2021).

Inicialmente, a doença foi atribuída a fatores locais como irritação constante, má higiene ou fatores sistémicos como deficiências vitamínicas, desnutrição ou fatores genéticos (Milano et al., 2023). No entanto, posteriormente, algumas pesquisas demonstraram que o agente causal estava relacionado com um vírus, especificamente demonstrando a presença do HPV, concretamente os serotipos HPV-13 e HPV-32 (Bendtsen et al., 2021).

As lesões papulonodulares são mais comuns na mucosa oral e labial e, geralmente, são planas e de cor rosada. Apresentações papilomatosas são mais comuns na mucosa

mastigatória das gengivas e da língua, com superfícies protuberantes e brancas (Milano et al., 2023) (Tabela 4).

Tabela 4. Lesões Oraís Benignas.

Nome da Lesão	Tipo de HPV	Características macroscópicas	Local de incidência	Diagnóstico diferencial
Verruga Vulgaris (VV)	HPV-2 e HPV-4	Lesões exofíticas, sésseis, rosadas a brancas, geralmente < 1 cm	Área periungueal das mãos, qualquer parte da pele	Xantoma verruciforme (VX), papilomatose, hiperplasia verrucosa, carcinoma verrucoso
Papiloma Escamoso (PE)	HPV-6 e HPV-1	Projeções exofíticas como "dedos" ou "couves-flor", papilares, epitélio macio	Cavidade oral e orofaringe	Verruga vulgar (VV), xantoma verruciforme (VX), condiloma acuminado (CA), fibroma de células gigantes (FCG), carcinoma escamoso papilar (P-SCC)
Condiloma Acuminado (CA)	HPV-6 e HPV-7	Lesões únicas ou múltiplas, rosa a branca, pedunculadas ou sésseis, textura de couve-flor	Cavidade oral, região anogenital	Papiloma escamoso (PE), xantoma verruciforme (VX), carcinoma escamoso papilar (P-SCC), hiperplasia epitelial multifocal (HEM)
Hiperplasia Epitelial Focal (FEH) ou Doença de Heck	HPV-13 e HPV-32	Lesões papulonodulares planas e rosadas, lesões papilomatosas com superfícies brancas	Mucosa oral, lábios (mais comum no lábio inferior)	Verruga vulgar (VV), papiloma escamoso múltiplo, condiloma acuminado (CA), doença de Darier, doença de Crohn, síndrome de Cowden (CS), neurofibromatose tipo 1 (NF1), neoplasia endócrina múltipla tipo 2B (MEN2B)

O exame histológico mostra áreas exofíticas com estrutura nodular a papilar na superfície. O epitélio é acantótico e anastomosado. Corpos mitosóides esporádicos podem ser encontrados em células epiteliais aumentadas, exibindo padrões de cromatina degenerativa que podem lembrar figuras mitóticas. Esses corpos mitosóides e a coilocitose exercem efeitos citopáticos virais (Milano et al., 2023).

O diagnóstico diferencial deve ser feito com a VV, o papiloma escamoso múltiplo, o CA, a doença de Darier, a doença de Crohn e síndromes como a síndrome de Cowden (CS), a neurofibromatose tipo 1 (NF1) ou a neoplasia endócrina múltipla tipo 2B (MEN2B).

A etiologia pode ser determinada com precisão por meio de uma biópsia. A proliferação hamartomatosa sem efeitos citopáticos virais é demonstrada histologicamente numa lesão de CS. O diagnóstico diferencial deve incluir a hamartomatose múltipla e a pioestomatite vegetante (Hasche & Akgúl, 2023).

3.2. Alterações orais potencialmente malignas

O líquen plano oral e a leucoplasia oral estão entre as alterações orais potencialmente malignas da cavidade oral. Pesquisas recentes mostraram que o HPV está envolvido no desenvolvimento destas lesões e do carcinoma espinocelular da cavidade oral (Agha-Hosseini & Motlagh, 2023). No caso de alterações orais potencialmente malignas, a alta prevalência desta infeção pode ser um evento precoce no processo de cancerização. Além disso, a resistência deste vírus é crucial na presença de determinados hábitos, como o consumo de tabaco em todas as suas formas, o alcoolismo, a onicofagia e a má higiene oral (Agha-Hosseini & Motlagh, 2023). Uma combinação de fatores de risco pode desencadear alterações celulares que podem conduzir a benignidade das lesões à transformação potencialmente maligna e/ou maligna (Agha-Hosseini & Motlagh, 2023).

A presença do HPV-16 está claramente relacionada com o desenvolvimento da leucoplasia oral e de lesões de células escamosas do carcinoma oral, facto que significa que este vírus é um componente carcinogénico nesta patologia (Agha-Hosseini & Motlagh, 2023).

Leucoplasia Oral

A leucoplasia é uma lesão predominantemente branca que não pode ser identificada como outra lesão. É classificada como uma lesão potencialmente maligna porque tem o potencial de se transformar em maligna. Os resultados de pesquisas histológicas recentes apontam para a relação entre o vírus e a carcinogénese oral, facto que é evidenciado nas mudanças degenerativas frequentes na boca, com imagens de degeneração coilocítica e um aumento do infiltrado inflamatório subepitelial. Isto leva ao agravamento e à transformação da lesão potencialmente maligna (Radzki et al., 2022).

Para além disso, sabe-se que a zona mais propensa à propagação deste vírus patogénico é a mucosa da bochecha ou jugular, seguida da zona retromolar (Radzki et al., 2022). Esta evidência coincide com trabalhos de outros investigadores que isolaram lesões epiteliais da boca com características planas, papulares, pedunculadas ou múltiplas, que se espalharam pela língua, pela gengiva e pelas mucosas bucal e labial (Radzki et al., 2022).

A displasia epitelial com alterações celulares regressivas, é considerada a alteração histológica mais significativa na evolução das lesões potencialmente malignas. Esta é a característica histológica distintiva na previsão do risco de malignização. A prática do sexo oral expõe, constantemente, as membranas das mucosas à infeção por HPV (Radzki et al., 2022).

A resposta defensiva à agressão contínua por parte deste vírus oncogénico ocorre durante muito tempo. No entanto, se o fator causal não for eliminado, com o tempo, o epitélio pode desenvolver um estado de maior dano biológico originando, assim, alterações histológicas que provocam mudanças celulares, com ou sem transformação neoplásica (Radzki et al., 2022).

A infeção por HPV é encontrada nas áreas anatómicas mais vulneráveis à prática do sexo oro-genital, como a mucosa da bochecha, língua, gengivas e mucosa labial. Estas infeções evoluem durante um período prolongado e causam alterações no aspeto clínico do epitélio da boca, provocando variações no seu quadro histomorfológico. Podem tornar-se num carcinoma se não for interrompido o seu desenvolvimento (Radzki et al., 2022).

A leucoplasia oral é uma lesão associada à infeção inicial por VIH e de progressão da doença para SIDA. A maioria dos autores concorda que o serotipo envolvido neste tipo de lesão é o HPV-16, que influencia a malignização da leucoplasia verrugosa. Foi demonstrado que as proteínas oncogénicas E6 e E7 do HPV-16 se ligam, inativando dois reguladores cruciais do ciclo celular, os supressores tumorais p53 e Rb, facto que conduz a um alto risco de malignidade (Radzki et al., 2022).

Líquen Plano

Esta é uma lesão considerada potencialmente maligna, caracterizada pela presença de hiperqueratose com espessura variável, infiltrados inflamatórios e degeneração liquefativa da camada basal e hipergranulação e presença de coilocitos em células escamosas. Os serotipos mais frequentemente descritos são os HPV-16, 18, 31, 33 e 35, considerados de alto risco para a carcinogénese (Agha-Hosseini & Motlagh 2023) (Tabela 5).

Tabela 5. Alterações orais potencialmente malignas.

Nome da Lesão	Tipo de HPV	Características macroscópicas	Local de incidência	Diagnóstico diferencial
Leucoplasia Oral	HPV-16	Lesão predominantemente branca, potencialmente maligna	Mucosa da bochecha/jugular, zona retromolar	Outras lesões brancas na mucosa oral, como leucoplasia simples ou líquen plano oral
Líquen Plano	HPV-16, 18, 31, 33 e 35	Hiperqueratose variável, infiltrados inflamatórios, degeneração liquefativa da camada basal, hipergranulação, presença de coilocitos	Mucosa bucal, língua, gengivas, mucosa labial	Leucoplasia oral, candidíase oral, líquen escleroso, entre outras lesões brancas na mucosa oral

3.3. Lesões Malignas

Carcinoma Escamocelular

O Carcinoma Escamocelular (CCEO) representa 91% de todos os cancros orais (Fiorillo et al., 2021). Este tipo de cancro afeta principalmente pessoas com mais de 40 anos, com uma idade média de 65 anos, sendo mais comum em homens. Os tumores foram encontrados principalmente na língua, seguido pelo palato duro, palato mole e pavimento da língua. A localização mais comum em pacientes com hábitos de consumo de tabaco e de álcool é na língua (44,8%), seguida pelo pavimento e o palato mole (Fiorillo et al., 2021).

Os cancros da cavidade oral e da orofaringe estão ligados aos mesmos fatores de risco, como a exposição ao tabaco e ao álcool. No entanto, existem evidências que indicam que o HPV desempenha um papel importante na patogénese do carcinoma escamoso da cavidade oral e, em particular, do carcinoma da orofaringe, independentemente da participação dos outros fatores. Assim sendo, podem existir dois grupos de pacientes com diferentes condições: um relacionado com a infeção por HPV e outro relacionado com a exposição ao tabaco e ao álcool, podendo os primeiros ter uma melhor resposta ao tratamento (Elhalawani et al., 2020).

Em 1995, a Agência Internacional de Investigação em Cancro (IARC) declarou que os HPV-16 e HPV-18 têm um efeito cancerígeno em humanos. No entanto, já em 1983, Syrjanen et al. tinham encontrado sinais morfológicos e imunohistoquímicos que indicam a infeção por HPV nos carcinomas escamosos orais. Os HPV de alto risco têm sido detetados nestes carcinomas, especialmente os tipos 16, 18, 31 e 33 (Elhalawani et al., 2020).

4. Relação do HPV com cancro da orofaringe

4.1. Epidemiologia

A infeção por HPV é a segunda causa mais comum de cancro provocado por um agente infeccioso, depois do cancro gástrico, causado por *Helicobacter pylori* (Di Donato et al., 2021; Sasidharanpillai et al., 2021).

As infeções por HPV e doenças relacionadas afetam tanto mulheres como homens. Na verdade, estima-se que cerca de 80% das mulheres e homens sexualmente ativos serão infetados com HPV pelo menos, uma vez, durante as suas vidas (Nalli et al., 2021). No entanto, a epidemiologia do HPV difere entre populações masculinas e femininas (Lechner et al., 2022). Em todo o mundo, na população feminina, 26,8% dos casos afetam os órgãos genitais e 14% afetam o ânus, enquanto, na população masculina, 45,2% dos casos afetam os órgãos genitais e 16% afetam o ânus (Milano et al., 2023).

O cancro das células escamosas da cabeça e pescoço abrange uma grande quantidade de neoplasias de origem epitelial escamosa do trato aerodigestivo superior. O cancro das células escamosas da orofaringe é o cancro mais comum do tipo escamoso, representando até um quarto dos casos de cancro do pescoço (HNC), sendo responsável por cerca de 100.000 mortes anuais em todo o mundo. A etiologia do HNC é multifatorial, estabelecendo-se uma clara relação com a exposição ao tabaco e ao álcool. No entanto, atualmente existem evidências de desenvolvimento destes tumores com menor exposição a esses carcinogéneos e menor intervenção do vírus HPV do tipo oncogénico. Foi descrito que os tipos HPV-16, 18, 31, 33, 45, 52 e 58 são considerados causadores do cancro das células escamosas da orofaringe. Destes, o HPV-16 é o mais comumente aceite, afetando até 82% de todos os HNC em todo o mundo (Fung, 2017).

O cancro da orofaringe positivo para o HPV associa-se a um início da vida sexual mais precoce, ao número de parceiros sexuais, ao sexo masculino. Não existe consenso sobre o papel da higiene oral na infeção por HPV e no desenvolvimento do carcinoma da orofaringe, embora pareça em vários estudos que exista uma relação indireta, uma vez que uma higiene oral precária pode aumentar a possível inflamação a

nível gengival e periodontal, o que pode criar um ambiente mais favorável para a infeção por HPV. A inflamação crónica pode comprometer a integridade da mucosa, facilitando a entrada do vírus (Fung, 2017).

A literatura recente demonstra uma melhor sobrevivência para aqueles carcinomas da orofaringe positivos para HPV (Fung, 2017).

No que diz respeito às infeções por HPV entre os homens, verifica-se taxas são mais elevadas em homens que têm atividade sexual com outros homens e em homens que são HIV positivos (Sasidharanpillai et al., 2021).

O HPV causa cerca de 26-30% dos cancros de cabeça e pescoço (Di Donato et al., 2021). Atualmente, as incidências de OPSCC associado ao HPV (até 90% dos casos positivos para HPV-16) estão a aumentar nos países desenvolvidos. Os casos de OPSCC com HPV são mais prevalentes do que os casos de OPSCC sem HPV em pessoas que não consomem tabaco ou álcool (Lechner et al., 2022). A prevalência de OPSCC com HPV parece diminuir com a idade e, historicamente, a maioria destes casos ocorre em homens. A incidência de OPSCC com HPV aumentou consideravelmente nas últimas duas décadas em alguns países europeus, como o Reino Unido, os Países Baixos, a Alemanha e a Suécia (Lechner et al., 2022).

4.2. Sinais e sintomas

Um das lesões orais que podem estar relacionadas com infeção por HPV são as manchas brancas, também conhecidas como leucoplasias. Estas manchas são áreas da mucosa oral que têm uma coloração branca ou translúcida. Estas manchas podem indicar a presença de uma infeção por HPV (Fiorillo et al., 2021).

As verrugas são lesões elevadas que se assemelham a verrugas cutâneas e podem ser encontradas em vários locais da cavidade oral, podendo resultar de infeção por HPV (Fiorillo et al., 2021).

Estas lesões podem ser encontradas em várias partes da cavidade oral, sendo a gengiva e a língua os locais mais comuns. Podem também afetar outras áreas como o palato e as bochechas (Fiorillo et al., 2021).

As lesões causadas pela infeção por HPV podem apresentar uma variedade de aspetos visuais, desde brilhantes ou translúcidas até opacas ou rosadas. Esta discrepância na aparência das lesões pode dever-se a fatores como a localização específica na cavidade oral e a gravidade da infeção (Tumban, 2019).

É possível ocorrer a coinfeção com dois tipos de HPV na mesma lesão (Tumban, 2019).

A análise histopatológica das lesões resultantes da infeção por HPV, além dos sinais clínicos observados na cavidade oral, permite observar leucoplasia, hiperplasia epitelial, carcinoma oral, líquen oral e reação liquenoide. Estes diagnósticos histopatológicos podem revelar a gravidade da infeção por HPV e o seu potencial maligno (Tumban, 2019).

A sensação de corpo estranho bucofaríngeo, a dor ou ardor na mucosa bucal e o sangramento requerem consulta de especialidade e atenção adequada ao caso (Fiorillo et al., 2021).

4.3. Fatores de risco

Como já referido, a maioria das infeções orais oncogénicas por HPV em homens e mulheres resulta do comportamento sexual. Práticas sexuais específicas, como sexo oral recetivo, aumentam o risco de infeção por HPV na mucosa da orofaringe, facto que eleva o risco de desenvolver cancro da orofaringe. O número de parceiros sexuais, tanto vaginais como orais, assim como a idade precoce em que se inicia a atividade sexual, estão associados a um maior risco de cancro da orofaringe (Milano et al., 2023).

O aumento do risco de HNC por HPV ocorre no caso de ter tido uma doença maligna atribuída ao HPV, antecedentes de HPV anogenital ou anticorpos contra HPV. Especificamente, os pacientes com cancro do colo do útero têm um risco 5 vezes maior de desenvolver um HNC associado ao HPV. Da mesma forma, os seus cônjuges têm um risco maior de sofrer um cancro de orofaringe com HPV presente (Boguña, 2019).

Existem fatores de risco adicionais que podem favorecer a infeção por HPV e sua carcinogénese, como o consumo de álcool, tabaco e marijuana. Embora os HPV positivos não estejam associados a pacientes fumadores ou consumidores de álcool, o consumo destas substâncias desempenha um papel importante no desenvolvimento dos cancros. O tabaco diminui a imunidade inata e celular e facilita a persistência da infeção, enquanto o álcool atua como solvente e aumenta a exposição da mucosa ao HPV. Mais ainda, estas substâncias têm um efeito sinérgico (Boguña, 2019).

Foi encontrada uma correlação positiva entre a má higiene oral e a infeção por HPV. A presença de bolsas periodontais pode criar um ambiente favorável à infeção e à persistência do HPV na cavidade oral (Milano et al., 2023). A composição específica do microbioma oral também pode estar relacionada com a carga viral do HPV na cavidade oral (Milano et al., 2023).

A infeção pelo HIV e a imunossupressão relacionada estão associadas a uma maior prevalência de infeção oral por HPV, sugerindo que a imunossupressão pode aumentar a suscetibilidade à infeção por HPV ou à sua replicação (Milano et al., 2023).

4.4. Diagnóstico

Existem diversos métodos disponíveis para o diagnóstico laboratorial das infeções por HPV que diferem quanto à aplicabilidade em relação ao material biológico, à sensibilidade e à especificidade. Existem métodos citológicos, imunohistoquímicos e moleculares (Fiorillo et al., 2021).

As técnicas utilizadas para recolha da amostra para realizar a citologia, podem ser (Fiorillo et al., 2021):

- O método da aposição (muito útil em lesões da língua).
- Método de raspagem e curetagem (mais utilizado na mucosa bucal).
- Método de lavagem ou irrigação na boca.
- Técnica de aspiração ou punção (não é considerada exfoliativa, mas é muito utilizada na cavidade oral, especialmente em lesões profundas e de difícil acesso).
- Técnica por escovagem.

Posteriormente, o esfregaço não pode secar, sendo necessário realizar a fixação imediata, utilizando álcool a 96% ou um fixador em spray. A coloração mais utilizada é a técnica de Papanicolau que, na citologia esfoliativa, permite corar as células epiteliais superficiais de rosa, as epiteliais profundas de verde, roxo e violeta, o citoplasma dos leucócitos de azul e o núcleo de negro, as bactérias, fungos e corpos estranhos de azul escuro e os glóbulos vermelhos ficam corados de rosa intenso (Fiorillo et al., 2021).

Depois da coloração, são descritas as classificações apresentadas na Tabela 6 (Kamolratanakul & Pitisuttithum, 2021).

A análise citológica ajuda no diagnóstico e no controlo de uma grande quantidade de doenças de diferentes origens, virais, bacterianas e neoplásicas, destacando a alta eficácia e especificidade no diagnóstico.

Os métodos imunohistoquímicos, ou métodos que detetam as proteínas virais, utilizam material citológico fresco ou fixado da lesão, que é incubado com anticorpos policlonais

ou monoclonais dirigidos contra antigénios maiores e menores da cápside, capazes de reconhecer diferentes subtipos (Ahmed et al., 2020).

Tabela 6. Classificação do diagnóstico laboratorial de infeções por HPV.

Classe	Descrição
I	Células normais
II	Células normais com reações inflamatórias
III	Reações inflamatórias mais intensas, células normais, células atípicas isoladas. Suspeita e indicativa de displasia
IV	Atipia, hemorragia, reações inflamatórias severas. Critérios indiretos de malignidade, pode corresponder a um carcinoma <i>in situ</i> (que não se espalhou para o músculo)
V	Hemorragias marcadas, presença de células anaplásicas. Geralmente corresponde a carcinoma invasor

Posteriormente, foram desenvolvidos anticorpos biotinizados ligados ao complexo avidina-peroxidase e capazes de se ligar ao complexo primário. A fase final da revelação envolve a adição de cromogéneos específicos e uma contracoloração com hematoxilina. Os núcleos das células infetadas mostram uma cor vermelha ou castanha, dependendo do cromogéneo utilizado. As limitações deste método estão relacionadas com a baixa sensibilidade, especialmente nos casos em que os antigénios da cápside não são expressos (Ahmed et al., 2020).

Por fim, os métodos moleculares ou métodos de deteção de sequências genómicas do vírus permitem a identificação do DNA viral com genotipagem relativa em preparações obtidas a partir de diferentes amostras biológicas. Em humanos, são utilizadas células superficiais da saliva, urina e epitélio do pénis e da vulva e líquido seminal. Atualmente, a amplificação de ácidos nucleicos através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) e as suas variações, é o método mais utilizado para deteção de HPV em humanos. A deteção do vírus é feita por amplificação de regiões do gene L1 do genoma viral, permitindo a subsequente tipificação de vários génotipos virais a partir da amplificação do DNA de uma única amostra (Augustine et al., 2020).

Embora não haja consenso sobre que técnica utilizar para associar o carcinoma de células escamosas da cabeça e pescoço (HNSCC) ao HPV, atualmente estão disponíveis as seguintes técnicas (Boguña, 2019):

- Deteção de p16INK4A por imunohistoquímica
- Deteção de HPV por PCR
- Deteção por hibridação *in situ*
- Deteção de Ki67
- Deteção de MCM2 e topoisomerase II alfa
- Deteção de E6/E7 por PCR ou hibridação *in situ*
- Deteção de imunoglobulina G específica para HPV-associado

Atualmente, o teste Roche Cobas® é o único teste de HPV aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) como teste de rastreio independente para mulheres com 25 anos de idade ou mais. A amplificação do genoma não deve envolver apenas o gene codificante da proteína L1, pois este gene pode não estar expresso após a infeção viral. Uma opção mais completa é o teste de RNAm de HPV que testa a expressão das oncoproteínas E6 e E7, que são marcadores detetáveis da integração do genoma viral no do hospedeiro (Bhatla & Singhal, 2020).

O estudo mais relevante realizou uma análise detalhada de mais de 1.000 pacientes que receberam tratamento definitivo para OPSCC, tendo demonstrado um valor preditivo positivo de 95% para pacientes positivos e um valor preditivo negativo de 95% para pacientes negativos. Estes resultados indicam que estes testes podem desempenhar um papel importante na deteção precoce de recidivas em pacientes que recebem tratamento para OPSCC (Colevas, 2022).

Deste modo, estes testes oferecem uma nova perspetiva no diagnóstico e monitorização do cancro de orofaringe, podendo complementar os métodos de diagnóstico convencionais, como avaliação clínica e exames de imagem. Estudos controlados adicionais são necessários para validar e otimizar o uso desses testes na prática clínica, bem como considerações de custo-benefício para sua implementação generalizada (Fiorillo et al., 2021).

4.5. Prevenção

Um plano para reduzir o impacto do carcinoma oral deve ser obrigatório, abrangente e complementar, priorizando estratégias de prevenção, considerando a história natural (referenciando a longa fase de latência e lesões pré-neoplásicas), a gravidade da doença, a transversalidade social e económica e a vulnerabilidade do carcinoma oral à prevenção e ao tratamento. A prevenção primária, secundária e terciária, diagnóstico e tratamento, bem como cuidados paliativos devem ser considerados em todos os programas.

O principal método de prevenção é evitar infeções por HPV e fatores que aumentem o risco de desenvolver HNSCC. Assim, ao nível de prevenção primária, deve haver um programa de alteração de comportamentos de risco, incluindo educação sexual e promoção da vacinação para evitar a propagação do vírus (Milano et al., 2023).

Ao nível da prevenção secundária, os programas de rastreio devem detetar rapidamente lesões potencialmente malignas, adaptando-se à população, treinando profissionais de saúde e educando os grupos-alvo (Milano et al., 2023).

Um "exame Papanicolau oral" pode levar a um diagnóstico e tratamento rápidos. É uma ferramenta útil para rastrear o HNSCC (Fiorillo et al., 2021).

A citologia esfoliativa através do teste de Papanicolau é o estudo morfológico das células que se desprendem dos epitélios na cavidade oral. Tem sido utilizada na elaboração de lesões inflamatórias, infecciosas e cancerígenas. O primeiro a utilizá-las na cavidade oral foi Montgomery em 1998 para o diagnóstico de doenças periodontais (Fiorillo et al., 2021).

O diagnóstico e o tratamento são parte da prevenção terciária, ou seja, garantir a continuidade dos cuidados após "rastreo positivo" em lesões pré-neoplásicas e cancro invasivo (Milano et al., 2023).

Os cuidados paliativos e relacionados devem ser fornecidos em pacientes com doença avançada (Milano et al., 2023). Estes cuidados são uma atenção especializada para

peessoas com doenças graves, que estão focados no alívio dos sintomas, como a dor e na melhoria da qualidade de vida, tanto do paciente como do seu ambiente familiar. Estes cuidados são realizados por uma equipa de médicos, enfermeiros e outros especialistas que trabalham para fornecer um nível adicional de apoio. São apropriados para qualquer idade e etapa da doença, baseando-se na necessidade e não, no prognóstico, e podem ser realizados em conjunto com o tratamento curativo. Cada tipo de tratamento para o cancro da cabeça e pescoço pode envolver uma combinação de radioterapia, cirurgia e quimioterapia. O tratamento depende do tipo de cancro, da sua localização e do seu grau de disseminação. Os especialistas em cuidados paliativos adaptam as opções de tratamento adequadas às necessidades e aos objetivos do paciente em cada caso (Milano et al., 2023).

Além de utilizar terapias medicamentosas e físicas, estes cuidados paliativos abordam o trauma emocional causado pela doença. Se o cancro afetar a garganta e a laringe, é possível ocorrer perda de voz, dificuldades para respirar, comer, mastigar e beber. Pode ser necessário o uso de uma sonda nasogástrica (para introduzir nutrientes no estômago) ou uma traqueotomia (cria um orifício para respirar) (Milano et al., 2023).

Todos estes tratamentos permitem gerir adequadamente a evolução da doença. A equipa inclui fisioterapeutas, terapeutas da fala, assistentes sociais, dietistas, e a própria equipa médica, incluindo psicólogos e psiquiatras (Milano et al., 2023).

Pode-se recorrer à equipa de cuidados paliativos em qualquer momento após o diagnóstico. Esses especialistas ajudarão o paciente e sua família a lidar com os desafios do cancro da cabeça e pescoço, tanto pelos efeitos secundários do tratamento médico quanto pelo stress do cuidador familiar (Milano et al., 2023).

O objetivo prioritário da equipa de cuidados paliativos é melhorar a qualidade de vida do paciente (Milano et al., 2023).

Prevenção Primária

Embora nem todos os genótipos de HPV estejam implicados no cancro, estas infeções e as doenças relacionadas devem ser levadas a sério, mesmo sabendo que, geralmente, as

infeções por HPV desaparecem espontaneamente no espaço de 1 a 2 anos (Petca et al., 2020).

Até à data, as vacinas oferecem a melhor opção custo-eficácia para a prevenção. Todas as vacinas atualmente em uso são baseadas em partículas semelhantes a vírus (VLPs) da proteína L1, que é considerada uma proteína imunogénica forte. Esta proteína tem a capacidade de automontagem espontânea a partir de pentâmeros (Yazdani et al., 2020).

O Gardasil (4vHPV) foi a primeira vacina a ser aprovada (em 2006) pela FDA. Destinase a quatro tipos de HPV (6, 11, 16 e 18). A vacina bivalente Cervarix (2vHPV), que visa o HPV-16 e 18, foi aprovada em 2007. Foi comprovado que a 2vHPV também protege contra HPV-31, 33 e 45 e reduz as verrugas genitais causadas por HPV-6 e 11. As proteínas do Cervarix são produzidas em células de insetos infetadas por baculovírus, enquanto as proteínas do Gardasil são produzidas em *Saccharomyces cerevisiae* (Milano et al., 2023).

Mais tarde, foi desenvolvida uma versão nonavalente, a Gardasil 9 (9vHPV) que, para além de se destinar aos HPV-6, 11, 16 e 18, inclui ainda cinco VLPs de L1, particularmente os tipos oncogénicos de HPV-31, 33, 45, 52 e 58. Quando comparada com a 4vHPV, demonstrou as melhores taxas de prevenção de infeções por HPV de baixo e alto risco. Aprovada pela FDA em 2014, esta vacina é considerada o melhor modo de prevenir neoplasias cervicais epiteliais I, II e III e 90% das doenças relacionadas com o HPV comparativamente com as suas antecessoras. Em 2020, a 9vHPV foi indicada para a prevenção de alguns cancros da cabeça e pescoço causados por este vírus (Markowitz & Schiller, 2021).

Com base em estudos epidemiológicos, prevê-se que a Gardasil 9 proteja contra os tipos de HPV que causam aproximadamente 90% dos cancros cervicais, mais de 95% dos adenocarcinomas, 75-85% das neoplasias cervicais epiteliais de alto grau, 85-90% dos cancros vulvares relacionados com o HPV, 90-95% das Neoplasia Intraepitelial Vulvar (VIN) de alto grau relacionadas com o HPV, 80-85% dos cancros vaginais relacionados com o HPV, 75-85% das neoplasias vaginais intraepiteliais de alto grau relacionadas com o HPV, 90-95% dos cancros anais relacionados com o HPV, 85-90% das neoplasias anais

intraepiteliais de alto grau relacionadas com o HPV e 90% das verrugas genitais (Tsang et al., 2020).

Em homens, a 4vHPV pode reduzir a incidência de lesões genitais externas, incluindo condilomas acuminados, neoplasia intraepitelial anal de graus I e II, e infeções persistentes por HPV-6, 11, 16 e 18 (Kamolratanakul & Pitisuttithum, 2021).

A comparação da eficácia das vacinas bivalente, tetravalente e nonavalente contra o HPV-16 e 18 mostrou semelhante eficácia para todas (Kamolratanakul & Pitisuttithum, 2021). No entanto, a vacina nonavalente pode fornecer maiores benefícios por aumentar a cobertura para os HPV-31, 33, 45, 52 e 58. O aumento da cobertura vacinal contra os HPV-52 e 58 é particularmente importante na Ásia devido à prevalência relativamente alta destes tipos (Kamolratanakul & Pitisuttithum, 2021).

A vacina bivalente demonstrou uma melhor proteção cruzada contra o HPV-31, 33 e 45, mantendo a sua eficácia por mais de 9 anos (Kamolratanakul & Pitisuttithum, 2021).

A vacinação contra o HPV mostra ainda alta eficácia contra infeções orais por HPV-16 e 18, detetando-se a presença de anticorpos IgG no fluido oral de uma proporção significativa de participantes, após a vacinação (Kamolratanakul & Pitisuttithum, 2021).

A vacinação pode ser fornecida a partir dos 9 anos de idade. No entanto, desde 2006, recomenda-se a vacinação de recuperação para mulheres até aos 26 anos de idade, e desde 2011, recomenda-se a vacinação de recuperação para homens até aos 21 anos de idade, além de algumas populações especiais até aos 26 anos. Além disso, uma vez que a incidência de infeção por HPV em adultos está a aumentar, atualmente recomenda-se a vacinação para mulheres e homens com 45 anos de idade (Quang et al., 2022).

De acordo com as recomendações do CDC (Centers for Disease Control and Prevention) e do ACIP (Advisory Committee on Immunization Practices), são recomendadas duas ou três doses de 9vHPV para ambos os sexos, entre os 9 e os 45 anos de idade (Quang et al., 2022). Atualmente, quase toda a Europa e todo o continente americano e a Austrália recomendam a vacinação contra o HPV, com exceção de Cuba, Honduras e Venezuela (Quang et al., 2022).

A taxa de seroconversão dentro de 1 mês após três doses da vacina nonavalente foi quase de 100% para os nove tipos de HPV, e entre 77,5% e 100% dos participantes permaneceram seropositivos após 5 anos. Os níveis de anticorpos para os tipos de HPV-6, 11, 16 e 18 após o tratamento com a vacina nonavalente não foram diferentes daqueles após a vacina tetravalente. Além disso, a vacina nonavalente mostrou ser segura para pessoas que tinham recebido anteriormente a vacina contra o HPV e fornecia proteção contra cinco novos serotipos de HPV, encontrando taxas de anticorpos superiores contra os novos tipos em adolescentes jovens em comparação com adultos jovens (Toh et al., 2019). Além disso, as mulheres que receberam 3 doses de Gardasil 9 e uma dose de reforço 5 anos depois mostraram uma resposta anamnésica rápida e forte. Também é importante mencionar que existem dados que sugerem que mesmo a imunização com uma única dose pode ser eficaz, embora com menor eficácia e duração limitada (Brotherton et al., 2019).

Só é possível alcançar a imunidade de grupo se os homens forem incluídos nos programas de vacinação. Na verdade, a adoção de cronogramas de vacinação contra o HPV neutros em termos de género reduzirá as infeções transmitidas pela população, combaterá a desinformação, minimizará o estigma relacionado com a vacina e promoverá a equidade de género. Até à data, apenas alguns países alcançaram uma cobertura de vacinação de 70% (Dykens et al., 2023), com uma discrepância marcante entre continentes, variando de 20% na África subsariana a 77% na Nova Zelândia. Em alguns países, como a China, não há uma clara cobertura, uma vez que a vacina não está aprovada para homens, não está incluída no programa nacional de vacinação, sendo esta por conta própria.

Em 2021, o Butão foi o primeiro país a adotar uma estratégia de vacinação neutra em termos de género (Dykens et al., 2023). Nos Estados Unidos, a vacinação é recomendada para mulheres desde 2006 e, para homens, a partir de 2011, sendo apenas distribuída a vacina 9vHPV, desde 2016 (Dykens et al., 2023). Na América do Sul, os dados sobre cobertura vacinal não estão disponíveis para todos os países. O México é o único país que alcançou a meta de 90% das mulheres totalmente vacinadas até aos 15 anos (Dykens et al., 2023). Na Europa, a cobertura varia entre 14% e 86%, com os valores mais altos no Reino Unido e os valores mais baixos na Bulgária. A disponibilidade de vacinas e políticas de vacinação varia de país para país. Em Itália, o programa nacional de

vacinação prevê a vacinação universal para as populações-alvo, utilizando a vacina nonavalente para ambos os sexos a partir dos 11 anos. A Polónia, por outro lado, exige que os cidadãos paguem pela vacina do HPV, e em França, o seguro nacional de saúde reembolsa 65% do custo (Dykens et al., 2023).

Por último, algumas evidências mostram que a circuncisão masculina reduz o risco de certas infeções virais sexualmente transmitidas nos homens e, conseqüentemente, para as suas parceiras femininas. Especificamente, a circuncisão masculina está associada a ligeiras reduções na infeção por HPV de alto risco, enquanto as vacinas licenciadas contra o HPV protegem apenas contra um número limitado de tipos de HPV com um alto nível de eficácia. É provável, portanto, que as duas intervenções tenham efeitos sinérgicos importantes (Dykens et al., 2023).

Quanto à segurança das vacinas, uma revisão sistemática de eventos adversos graves encomendada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) não mostrou diferenças nas taxas desses eventos entre os expostos e os não expostos à vacina contra o HPV (Dykens et al., 2023). No entanto, o risco de anafilaxia tem sido observado em aproximadamente 0,3 a 3 casos por milhão de doses (Dykens et al., 2023).

Entre os efeitos adversos incluem a síndrome de dor regional complexa (SDRC), paralisia de Bell, síndrome de taquicardia postural ortostática (POTS), insuficiência ovárica prematura, insuficiência ovárica primária e tromboembolismo venoso (Dykens et al., 2023).

Embora as vacinas contra o HPV não tenham descritos efeitos adversos na gravidez não é recomendado o seu uso durante a gravidez (Kamolratanakul & Pitisuttithum, 2021).

Uma vez que a vacina nonavalente possui mais do dobro de VLPs e adjuvante de alumínio do que o seu homólogo tetravalente, a vacina nonavalente desencadeou mais frequentemente reações adversas locais e sistémicas do que a vacina tetravalente (Donahue et al., 2019).

Alguns estudos têm-se concentrado no uso de uma vacina derivada da proteína L2 para melhorar a proteção contra os vírus do papiloma cutâneo. Os anticorpos contra L2

derivado do HPV-16 são capazes de realizar uma neutralização cruzada *in vitro* contra vários tipos de HPV, incluindo o HPV-2, 3, 5, 8, 23, 27, 38, 57 e 76. A neutralização cruzada também pode ser alcançada *in vivo*, no entanto, até o momento, não foi avaliada a eficácia desta vacina na prevenção de tumores de pele (Kamolratanakul & Pitisuttithum, 2021).

Embora, até ao momento, não existam vacinas terapêuticas que possam curar irreversivelmente o cancro do colo do útero associado ao HPV, algumas vacinas candidatas terapêuticas encontram-se em estudo, como por exemplo a vacina de DNA VGX-3100, a vacina de péptidos E6/E7 do HPV, a vacina de ARN Vvax001 e a vacina baseada em proteínas SGN00101 (Kamolratanakul & Pitisuttithum, 2021).

Apesar das vacinas contra o HPV terem uma eficácia muito alta, as mulheres que receberam a série de vacinas contra o HPV devem continuar a fazer testes de deteção de cancro do colo do útero a partir dos 21 anos, de acordo com as diretrizes atuais de deteção deste cancro (Kamolratanakul & Pitisuttithum, 2021).

Prevenção Secundária

A prevenção primária não substitui a prevenção secundária. Esta consiste na realização de rastreios e reconhecimento de grupos sociais e indivíduos de alto risco para evitar a consolidação dos problemas que apresentam. Em geral, são ações para limitar uma doença que já existe (Kamolratanakul & Pitisuttithum, 2021). Portanto, a prevenção secundária diz respeito ao diagnóstico precoce e métodos para detetar e evitar a progressão do cancro. Estes incluem a inspeção visual com ácido acético em concentrações de 5% e a utilização do lugol, ambos aplicados com um cotonete. A correta interpretação dos resultados é crucial para determinar se o teste é positivo ou negativo, assim como a estratégia clínica a realizar no caso de ser positivo. O teste de Papanicolau ou uma citologia líquida são alternativas utilizáveis nos métodos de rastreio. Também pode ser utilizada a identificação da presença do vírus por PCR (Kamolratanakul & Pitisuttithum, 2021).

Como o cancro é uma doença multifatorial, um teste de DNA de HPV positivo não significa, necessariamente, que se tenha cancro, sendo necessária uma investigação adicional com biópsia (Kamolratanakul & Pitisuttithum, 2021).

Prevenção Terciária

A prevenção terciária visa tanto as fases clínicas como os resultados de uma doença. É implementada em pacientes sintomáticos e tem por objetivo reduzir a gravidade da doença e quaisquer sequelas associadas. Para os câncros induzidos por HPV, alguns estudos retrospectivos mostram um efeito protetor significativo da vacina contra HPV em mulheres e homens tratados cirurgicamente para a doença pelo HPV (Milano et al., 2023).

As vacinas para HPV, além de prevenirem infeções urogenitais, também o fazem na região da cabeça e pescoço, uma vez que induzem a produção de anticorpos específicos contra HPV na saliva, incluindo anticorpos neutralizantes. A concentração de anticorpos contra HPV-16 e 18 aumentou, tanto na saliva como no soro dos pacientes que receberam a vacinação contra HPV, embora fosse mais baixa na saliva do que no soro (Pinto et al., 2016; Syrjänen, 2018).

Mais ainda, a redução de recorrências após o tratamento em pacientes vacinados também foi confirmada para lesões benignas. Na verdade, para a papilomatose respiratória, o uso da vacinação contra HPV como terapia adjuvante em combinação com a cirurgia mostrou proporcionar benefícios substanciais (Milano et al., 2023). Por outro lado, a vacinação não parece proporcionar um benefício secundário significativo em pacientes com verrugas ano-genitais anteriores (Milano et al., 2023).

Vários métodos têm sido estudados para a prevenção terciária de CCEO, embora ainda não tenham sido prospectivamente validados através de um estudo rigoroso. Estes métodos incluem biomarcadores de fluído oral e biomarcadores sanguíneos. No primeiro, a presença de DNA de HPV de alto grau parece estar relacionada com um risco de recorrência, enquanto para biomarcadores sanguíneos, foi observado que níveis mais elevados do anticorpo contra a proteína E6 estão associados a um aumento do risco de recorrência. Já foi observado que em fases mais avançadas da doença, estão presentes níveis mais elevados de DNA circulante. No entanto, ainda são necessários mais estudos que possam comprovar se o nível de DNA circulante é indicativo de persistência ou recorrência da doença, como acontece noutros carcinomas induzidos por vírus (Milano et al., 2023).

4.6. Estratégias terapêuticas

Para a infeção pelo HPV na cavidade oral, ao contrário de outras doenças virais infecciosas que respondem à terapia medicamentosa, não há substâncias ativas disponíveis que possam erradicar a infeção ou induzir a regressão das lesões clínicas presentes.

Alguns medicamentos têm sido testados para uso tópico e/ou sistémico no tratamento de lesões genitais, mas até à data não há tratamento definitivo disponível para estas lesões (Sendagorta et al., 2019).

Entre os fármacos utilizados, encontra-se o Imiquimod (Aldara®), um modulador da resposta imune que estimula a produção de interferão e outras citocinas. Este fármaco foi aprovado pela FDA para o tratamento de lesões verrucosas cutâneas, condilomas genitais, queratose actínica e algumas formas de carcinoma basocelular. Encontra-se comercializado em concentrações de 3,75% e 5%, e o seu uso no tratamento de infeções por HPV permite a remissão completa em 40-70% dos casos e resposta parcial em 93% dos casos. Os efeitos secundários deste fármaco são mínimos, podendo apenas exacerbar patologias autoimunes como lúpus eritematoso discoide, psoríase, SIDA ou vitiligo (Ferrall et al., 2021).

Também tem sido utilizado o Podofilinotoxina que se encontra disponível nas concentrações de 0,1% e 5%, no entanto, apresenta resultados inferiores ao Imiquimod (Aldara®) (Sendagorta et al., 2019).

O Polifenol E (sinecatequinas), nas concentrações de 10% e 20%, aprovado pela FDA em 2006, é uma alternativa para o tratamento tópico destas lesões. Seu princípio ativo é uma mistura de oito catequinas e a *camellia sinensis*, componente do chá verde. Este fármaco inibe o crescimento dos queratinócitos e possui atividade antioxidante e antiviral. A epigallocatequina galato, principal componente deste fármaco, atua inibindo o ciclo celular, ativando a apoptose das células infetadas e inibindo a transcrição do genoma do HPV. Quanto à sua eficácia, alcança-se erradicação completa em cerca de 70% dos condilomas genitais e das lesões verrucosas, mas não em lesões mucosas. Não existem

dados de segurança na gravidez, não sendo aconselhável o seu uso em pacientes grávidas. As recidivas foram baixas aos 6 meses, não havendo diferenças entre as apresentações a 10% ou a 20% (Yap et al., 2021).

Como tratamentos de segunda linha, está descrito o uso do Cidofovir (Vistide®), análogo do nucleótido desoxicidina monofosfato (dCMP). Este medicamento inibe competitivamente a incorporação de dCMP no decurso da replicação do DNA viral pela DNA polimerase. Deste modo, induz a apoptose das células infetadas por HPV, reduzindo a expressão dos oncogenes virais E6 e E7 e permitindo a expressão das proteínas supressoras p53 e pRb. Este produto tem se mostrado útil no tratamento dos condilomas genitais e mucosos em formulação tópica de 1-3%. Devido à sua teratogenicidade, não se recomenda o uso deste medicamento em gestantes. Pode ser um recurso a considerar em pacientes imunodeprimidos com patologia refratária a outras terapias ou em situações anatómicas de abordagem complexa. O seu uso foi aprovado pela FDA para o tratamento da retinite por citomegalovírus (Sendagorta et al., 2019).

O ácido tricloroacético é um agente cáustico muito barato que destrói as verrugas por coagulação química das proteínas. É especialmente útil em verrugas pequenas e em áreas de mucosa e semimucosa. Este agente é utilizado em concentração de 80-90% com taxas de sucesso de 56-81% após 2-6 sessões com recorrências em 36% dos pacientes. Como efeitos secundários após a sua aplicação, é comum a apresentação de dor ardente e alterações na cicatrização. O ácido bicloroacético compartilha com o tricloroacético as mesmas indicações, modo de aplicação e efeitos secundários (Dilley et al., 2020).

Outra alternativa é o interferão, um tratamento que tem demonstrado eficácia, especialmente na aplicação intralesional, mas também intramuscular. No entanto, seu alto custo e efeitos adversos limitam o seu uso a casos refratários, não devendo ser considerado um tratamento de primeira linha (Dilley et al., 2020).

O complexo nítri/zinco (Verrutop) é uma solução para aplicação tópica que contém ácido nítrico, zinco, cobre e ácidos orgânicos que causam um efeito cáustico nas verrugas. É necessária evidência adicional para definir a eficácia deste novo tratamento (Burman et al., 2022).

No caso de infeção oral subclínica, semelhante à genital, não foi demonstrado que os antivirais como o aciclovir e a ribavirina sejam eficazes contra a infeção. A estratégia terapêutica prevê o acompanhamento do paciente e a repetição do teste do HPV entre 8 e 12 meses após a primeira deteção e periodicamente para verificar a erradicação da infeção pelo sistema imunológico (Burman et al., 2022).

Na presença de lesões relacionadas com a infeção por HPV a nível orofaríngeo, tanto lesões benignas como nos casos de carcinoma escamoso em fases precoces, não há estudos que comprovem o uso de terapias tópicas na cavidade oral e o tratamento recomendado é essencialmente cirúrgico, sendo este a excisão, com bisturi de lâmina fria e laser cirúrgico de CO₂, o que permite realizar o exame histológico do tecido (Dilley et al., 2020). Existem também estudos sobre o uso da crioterapia com nitrogénio líquido, um tratamento ablativo baseado na destruição de tecidos por necrose induzida por baixa temperatura (-196°C). A técnica consiste em aplicar ciclos completos de congelação-descongelação, que variam de acordo com o tipo de lesão, embora não haja evidência por meio de ensaios clínicos comparando o número de aplicações mais eficazes (Dilley et al., 2020). Após o tratamento, geralmente estão presentes pequenas bolhas que cicatrizam em 1-2 semanas. Pode ser necessário repetir ciclos a cada 2 semanas, e mesmo até às 10 semanas. Este tratamento raramente produz sequelas como cicatrizes, alterações de sensibilidade ou mudanças pigmentares, e tem a vantagem de ser um tratamento eficaz, barato, simples e seguro na gravidez e lactação, alcançando remissão completa das lesões em 44-75% dos casos. No entanto, as taxas de recorrência são bastante elevadas, entre 21-42%. É especialmente útil em pequenas lesões ou papilomatosas de menor tamanho (Dilley et al., 2020).

A atual abordagem terapêutica de pacientes com carcinoma da orofaringe apresenta diferenças entre os casos relacionados com HPV e os não relacionados. Utilizando a classificação TNM [(T (Tumor Primário); N (Linfonodos Regionais); M (Metástase à distância)], a classificação T é a mesma, no entanto, a estadiificação N no HPV mudou. A nova classificação leva em conta o tamanho dos gânglios e a extensão das metástases nodais. Especificamente, o Estádio IV só é atribuído àqueles doentes com metástases distais.

Aqueles classificados em estágio inicial (T1-T2 e N0) são recomendados para terapia unimodal, seja por cirurgia ou radioterapia primária. O tratamento é de intenção curativa e, dependendo da avaliação histopatológica da peça ressecada, a quimioterapia (cisplatina) ou radioterapia adjuvante pode ser associada ou não (Castro et al., 2021).

Para pacientes com estados avançados (T3-T4 ou N1-N3-M0), é recomendada uma abordagem multimodal, seja com cirurgia primária mais radioterapia ou quimioterapia adjuvante ou quimiorradioterapia primária, com o objetivo de preservar os órgãos na região orofaríngea (Castro et al., 2021).

Atualmente, o uso da vacina com derivados das proteínas oncogénicas E6 e E7 do HPV-16, juntamente com o nivolumab (Opdivo®), é promissor nos tratamentos de cancro da orofaringe para este tipo viral. O nivolumab é um anticorpo monoclonal que se liga ao recetor de morte programada 1 dos linfócitos T (PD-1) e os inibidores do PD-1 e PD-L1 bloqueiam os efeitos imunossupressores do PD-1, permitindo que o sistema imunológico ataque e destrua as células tumorais (Syrjänen, 2018).

É importante notar que, devido à multifocalidade da infeção orofaríngea pelo HPV, a remoção cirúrgica da lesão não garante a erradicação da infeção, pois o DNA do HPV pode persistir na mucosa saudável adjacente (Castro et al., 2021)

III. Discussão

A infeção por HPV é considerada a infeção de transmissão sexual mais comum no mundo. Estima-se que mais de 80% das pessoas sexualmente ativas contrairão a infeção por HPV em algum momento da vida. A incidência máxima desta infeção ocorre após a primeira década de vida, após o início da atividade sexual. O cancro associado ao HPV ocorre em indivíduos jovens, principalmente homens, independentemente dos fatores de risco tradicionais, e encontra-se relacionado com o comportamento sexual (Chaturvedi et al., 2022).

A localização destas infeções é fundamentalmente a nível anogenital, embora também possa ocorrer noutras zonas, como na cavidade oral. Estudos recentes mostraram que a prevalência da infeção por HPV a nível anogenital é de 42,5% em adultos entre os 18 e os 59 anos de idade (45,2% em homens e 39,9% em mulheres). Quando distinguimos por tipo de HPV, a prevalência da infeção por vírus de alto risco oncogénico foi de 22,7%. A prevalência da infeção pelo HPV a nível oral é 7,3% (4% para os de alto risco oncogénico) (Chaturvedi et al., 2022).

A grande importância da infeção pelo HPV reside no facto de ser o agente etiológico de grande número de neoplasias, sendo responsável por 100% dos cancros cervicais, 87% dos cancros anais, 20% dos cancros orofaríngeos e 10-30% de outros carcinomas escamosos (vagina, vulva e pénis) (Chaturvedi et al., 2022).

Até há alguns anos, a neoplasia com maior incidência era o cancro cervical ou do colo do útero. Nos últimos anos, tem-se vindo a observar uma mudança na incidência, com uma diminuição de 1,6% por ano do cancro cervical, acompanhado por um aumento de 2-3% do cancro orofaríngeo e do cancro anal. Desde 2015, a neoplasia associada ao HPV com maior incidência é o cancro orofaríngeo, com uma taxa de 8,5 casos/100.000 pessoas/ano em homens. A taxa de incidência do cancro anal mantém-se em 2 casos/100.000 pessoas/ano na população em geral, mas chega a ser de 35 casos/100.000 pessoas/ano em homens que têm sexo com homens, e de 70-128 casos/100.000 pessoas/ano nestes homens com infeção por HIV. Globalmente, a infeção por HPV é responsável por mais de 6% de todas as neoplasias que ocorrem anualmente (Kombe et al., 2021).

A infeção é escassamente imunogénica, pelo que a infeção por um determinado genótipo não protege contra as infeções causadas por outros genótipos ou mesmo contra reinfeções após reexposição. Isto implica que, em casos de múltiplos contatos sexuais, pode ocorrer uma multirreinfeção e essas reinfeções condicionam a conversão numa infeção crónica.

A neoplasia maligna mais comum na cavidade oral é o SCC. Segundo estimativas recentes, tanto as taxas de incidência anual da doença como as taxas de mortalidade estão a aumentar, o que representa um grave problema de saúde pública (Kombe et al., 2021).

O possível papel etiológico do vírus na carcinogénese oral e de orofaringe é apoiado pelas seguintes evidências: tropismo epitelial do vírus; papel etiológico confirmado do HPV de alto risco em quase todos os SCCs do colo do útero e em mais de 50% dos anogenitais escamosos; semelhanças histológicas entre os epitélios de revestimento de ambas as mucosas (Colevas, 2022).

Os casos que apresentam PCR negativa e histologia positiva podem ser explicados pelo facto do PCR ser aplicado à deteção de um número limitado de tipos virais (Colevas, 2022).

Numa percentagem elevada de casos, a infeção resolve-se espontaneamente e o vírus desaparece. No entanto, noutros casos, o vírus permanece latente e pode levar ao desenvolvimento de lesões pré-tumorais (Colevas, 2022).

O tabaco é um fator de risco para várias formas de cancro nas vias respiratórias, incluindo a orofaringe. Fumar agrava a inflamação e é possível que atue sobre as capacidades defensivas do sistema imunológico. Em mucosas, o fumo da marijuana tem sido associado a um maior risco de infeção oral por HPV, agindo como um imunossupressor (Maele et al., 2021; Lechner et al., 2022).

O aumento da incidência de CCE associado ao HPV permitiu a identificação de um novo perfil de paciente com cancro de cabeça e pescoço, que difere bastante do paciente tradicional fumador e alcoólatra (Lechner et al., 2022).

IV. Conclusões

De modo a desenvolver métodos eficazes de prevenção e controlo da infeção oral por HPV, é necessário compreender os mecanismos de transmissão deste vírus e a epidemiologia da doença. Além disso, a identificação precoce de lesões orais causadas por HPV é essencial para o adequado manuseamento clínico e o bom prognóstico do paciente. Como resultado, pesquisas adicionais são necessárias para obter uma compreensão completa da epidemiologia, patogénese e consequências clínicas da infeção oral por HPV.

Os pacientes em risco e os afetados pela doença devem submeter-se a controlos periódicos tanto pelo otorrinolaringologista como pelo médico dentista e o ginecologista.

Entre os fatores de risco a considerar na génese do carcinoma escamoso de orofaringe estão o comportamento sexual promíscuo, o sexo masculino, a idade, a má higiene oral, o tabagismo, a imunodepressão e o consumo de álcool.

Durante a sua longa evolução, o HPV mais oncogénico, o HPV-16, adquiriu a capacidade de sequestrar os sistemas celulares e imunológicos humanos para se replicar e permanecer em silêncio.

A mãe desempenha um papel central na infeção da descendência, podendo a cavidade bucal ser o primeiro local de entrada do HPV no ser humano. Os papilomas e condilomas orais podem ser detectados em qualquer idade e, assim como no trato genital, são causados por HPV de baixo risco, os serotipos HPV-6 e HPV-11.

Os HPV-13 e 32 causam uma patologia específica da cavidade oral, a FEH (doença de Heck) que não é observada no trato genital. Um subgrupo de HNSCC é causado por HPV principalmente pelo serotipo 16. Os cancros da orofaringe (amígdalas e base da língua) diferenciam-se de outros HNSCCs por serem, principalmente, causados por HPV e terem melhor prognóstico. Os anticorpos contra o HPV podem ser detetados na saliva, havendo um aumento das suas concentrações após a vacinação contra este vírus.

Todas as vacinas que foram desenvolvidas contra HPV mostram proteção contra esta infeção. A eficácia destas vacinas tem sido notavelmente alta nas mulheres jovens soronegativas para o HPV antes da vacinação. Verificou-se que a eficácia das vacinas bivalente, tetravalente e nonavalente contra os HPV-16 e 18 é semelhante. No entanto, a vacina nonavalente pode conceder vantagens adicionais ao aumentar a cobertura para os serotipos 31/33/45/52/58. Esta ampliação adicional é particularmente importante na Ásia devido à alta prevalência dos serotipos 52 e 58 nesta região.

A redução dos HPV-6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 e 58 resulta da proteção direta da vacina nonavalente e da proteção cruzada proporcionada pelas vacinas bivalente e tetravalente. Além disso, foi observada uma diminuição significativa destes serótipos em mulheres não vacinadas, resultante da proteção de grupo. A vacinação contra o HPV mostrou a presença de IgG no fluido oral após a vacinação.

Embora as vacinas contra o HPV tenham demonstrado uma alta eficiência, devem continuar a ser realizados controlos clínicos para a prevenção dos diferentes tipos de cancro que podem ser induzidos.

Nas últimas décadas, a quantidade de informação sobre a infeção por HPV e o seu potencial oncogénico tem crescido consideravelmente. Para isto contribuíram as técnicas de biologia molecular aplicadas ao diagnóstico, à prevenção e ao tratamento das lesões induzidas por HPV. Compreender as interações entre o agente viral e o hospedeiro tem proporcionado novos objetivos para o controlo da infeção e estabelecido as bases para a formulação de novos objetivos terapêuticos.

É fundamental realçar que a população em geral tem pouco conhecimento sobre os métodos de transmissão e apresentação clínica da infeção por HPV, pela escassez de campanhas informativas, cuja implementação é desejável para uma melhor prevenção e controlo da infeção. Enquanto estes programas preventivos não são desenvolvidos, o médico dentista desempenha um papel de grande importância, especialmente na deteção dos tumores de orofaringe.

Bibliografia

- Agha-Hosseini, F. & Motlagh, K. H. (2023). The correlation between human papillomavirus and oral lichen planus: A systematic review of the literature. *Immunity, Inflammation and Disease*, 11(8), e960.
- Ahmed, N. U., Rojas, P. & Degarege, A. (2020). Knowledge of cervical cancer and adherence to Pap smear screening test among female university students in a multiethnic institution, USA. *Journal of the National Medical Association*, 112(3), 300-307.
- Augustin, J. G., Lepine, C., Morini, A., Brunet, A., Veyer, D., Brochard, C., Mirghani, H., Péré, H. & Badoual, C. (2020). HPV detection in head and neck squamous cell carcinomas: what is the issue?. *Frontiers in Oncology*, 10, 1751.
- Bendtsen, S. K., Jakobsen, K. K., Carlander, A. F., Grønhøj, C. & von Buchwald, C. (2021). Focal epithelial hyperplasia. *Viruses*, 13, 1529.
- Bhatla, N. & Singhal, S. (2020). Primary HPV screening for cervical cancer. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 65, 98-108.
- Boguñá, N., Capdevila, L. & Jané-Salas, E. (2019). Relationship of human papillomavirus with diseases of the oral cavity. *Medicina Clínica*, 153(4), 157-164.
- Brotherton, J. M., Budd, A., Rompotis, C., Bartlett, N., Malloy, M. J., Andersen, R. L., Coulter, K. A., Couvee, P. W., Steel, N., Ward, G. H. & Saville, M. (2019). Is one dose of human papillomavirus vaccine as effective as three?: A national cohort analysis. *Papillomavirus Research*, 8, 100177.
- Burman, B., Drutman, S. B., Fury, M. G., Wong, R. J., Katabi, N., Ho, A. L. & Pfister, D. G. (2022). Pharmacodynamic and therapeutic pilot studies of single-agent ribavirin in patients with human papillomavirus-related malignancies. *Oral Oncology*, 128, 1-20.
- Castro, M., Segui, V., Contreras, R. & Cardemil, M. F. (2021). Update in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Revista de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello*, 81(2), 291-305.
- Chan, A. B., Huber, A.-L. & Lamia, K. A. (2020). Cryptochromes modulate E2F family transcription factors. *Scientific Reports*, 10, 4077.
- Chaturvedi, A., Freedman, N. & Abnet, C. C. (2022). The evolving epidemiology of oral cavity and oropharyngeal cancers. *Cancer Research*, 82(16), 2821-2823.
- Colevas, A. D. (2022). HPV DNA as a biomarker in oropharyngeal cancer: A step in the right direction. *Clinical Cancer Research*, 28(19), 4171-4172.
- Di Donato, V., Caruso, G., Petrillo, M., Kontopantelis, E., Palaia, I., Perniola, G., Plotti, F., Angioli, R., Muzii, L., Panici, P. B. & Bogani, G. (2021). Adjuvant HPV

- vaccination to prevent recurrent cervical dysplasia after surgical treatment: A meta-analysis. *Vaccines*, 9(5), 410.
- Dilley, S., Miller K. M. & Huh, W. K. (2020). Vaccination against human papillomavirus current challenges and future directions. *Gynecologic Oncology*, 156, 489-502.
- Donahue, J. G., Kieke, B. A., Lewis, E. M., Weintraub, E. S., Hanson, K. E., McClure, D. L., Vickers, E. R., Gee, J., Daley, M. F., DeStefano, F., Hechter, R. C., Jackson, L. A., Klein, N. P., Naleway, A. L., Nelson, J. C. & Belongia, E. A. (2019). Near real-time surveillance to assess the safety of the 9-valent human Papillomavirus vaccine. *Pediatrics*, 144(6), e20191808.
- Van Doorslaer, K., Chen, Z., Bernard, H.-U., Chan, P. K. S., DeSalle, R., Dillner, J., Forslund, O., Haga, T., McBride, A. A. & Villa, L. L. (2018). ICTV virus taxonomy profile: Papillomaviridae. *Journal of General Virology*, 99(8), 989-990.
- Dykens, J. A., Peterson, C. E., Holt, H. K. & Harper, D. M. (2023). Gender neutral HPV vaccination programs: Reconsidering policies to expand cancer prevention globally. *Frontiers in Public Health*, 11, 1-6.
- Elhalawani, H., Mohamed, A. S. R., Elgohari, B., Lin, T. A., Sikora, A. G., Lai, S. Y., Abusaif, A., Phan, J., Morrison, W. H., Gunn, G. B., Rosenthal, D. I., Garden, A. S., Fuller, C. D. & Sandulache, V. C. (2020). Tobacco exposure as a major modifier of oncologic outcomes in human papillomavirus (HPV) associated oropharyngeal squamous cell carcinoma. *BMC Cancer*, 20(1), 912.
- Ebisch, R. M. F., Rijstenberg, L. L., Soltani, G. G., van der Horst, J., Vedder, J. E. M., Hermsen, M., Bosgraaf, R. P., Massuger, L. F. A. G., Meijer, C. J. L. M., Heideman, D. A. M., van Kemenade, F. J., Melchers, W. J. G., Bekkers, R. L. M., Siebers, A. G. & Bulten, J. (2022). Adjunctive use of p16 immunohistochemistry for optimizing management of CIN lesions in a high-risk human papillomavirus-positive population. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 101(11), 1328-1336.
- Ferris, R. & Westra, G. (2023). Oropharyngeal carcinoma with a special focus on HPV-related squamous cell carcinoma. *Annual Review of Pathology*, 18, 515-535.
- Fiorillo, L., Cervino, G., Surace, G., De Stefano, R., Laino, L., D'Amico, C., Fiorillo, M. T., Meto, A., Herford, A. S., Arzukanyan, A. V., Spagnuolo, G. & Cicciù, M. (2021). Human Papilloma Virus: current knowledge and focus on oral health. *Biomed Research International*, 10, 1155-1165.
- Ferrall, L., Lin, K. Y., Roden, R. B. S., Hung, C. F. & Wu, T. C. (2021). Cervical cancer immunotherapy: Facts and hopes. *Clinical Cancer Research*, 27(18), 4953-4973.
- Fung N., Faraji, F., Kang, H. & Fakhry, C. (2017). The role of human papillomavirus on the prognosis and treatment of oropharyngeal carcinoma. *Cancer Metastasis Reviews*, 36(3), 449-461.
- Harden, M. E. & Munger, K. (2017). Human papillomavirus molecular biology. *Mutation Research. Reviews in Mutation Research*, 772, 3-12.

- Hasche, D. & Akgül, B. (2023). Prevention and treatment of HPV-induced skin tumors. *Cancers*, *15*, 1709-1721.
- Kamolratanakul, S. & Pitisuttithum, P. (2021). Human Papillomavirus vaccine efficacy and effectiveness against cancer. *Vaccines*, *9*(12), 1413.
- Kombe, A. J., Li, B., Zahid, A., Mengist, H. M., Bounda, G. A., Zhou, Y. & Jin, T. (2021). Epidemiology and burden of Human Papillomavirus and related diseases, molecular pathogenesis, and vaccine evaluation. *Frontiers in Public Health*, *8*, 1-19.
- Lechner, M., Liu, J., Masterson, L. & Fenton, T. R. (2022). HPV-associated oropharyngeal cancer: epidemiology, molecular biology and clinical management. *Nature Reviews Clinical Oncology*, *19*(5), 306-327.
- León, X., López, M., García, J., Montserrat, J. R., Gras, J. R., Kolanczak, K. A. & Quer, M. (2019). Epidemiologic characteristics of squamous head and neck carcinoma patients. Results of a hospital register. *Acta Otorrinolaringologica*, *70*(5), 272-278.
- Maelle, S., Ghossein, R. & Xu, B. (2021). HPV-related head and neck cancers: Pathology and biology. *Journal of Surgical Oncology*, *124*(6), 923-930.
- Markowitz, L. E. & Schiller, J. T. (2021). Human Papillomavirus vaccines. *The Journal of Infectious Diseases*, *224*(12 Suppl 2), S367-S378.
- Milano, G., Guarducci, G., Nante, N., Montomoli, E. & Manini, I. (2023). Human Papillomavirus epidemiology and prevention: Is there still a gender gap?. *Vaccines*, *11*, 1060.
- Nalli, G., Mastrotta, P., Garcia, M. G., Tatti, S. & Verdú, S. (2021). Detection of oral Human Papillomavirus (HPV) and its clinical importance. *Journal of Dentistry*, *23*(1), 51-57.
- Nøhr, B., Kjaer, S. K., Soyly, L. & Jensen, A. (2019). High-risk human papillomavirus infection in female and subsequent risk of infertility: A population-based cohort study. *Fertility and Sterility*, *111*, 1236-1242.
- Petca, A., Borislavski, A., Zvanca, M. E., Petca, R. C., Sandru, F. & Dumitrascu, M. C. (2020). Non-sexual HPV transmission and role of vaccination for a better future (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine*, *20*(6), 186.
- Pimple, S. & Mishra, G. (2022). Cancer cervix: Epidemiology and disease burden. *Cytojournal*, *19*(21), 1-7.
- Pinto, L. A., Kemp, T. J., Torres, B. N., Isaacs-Soriano, K., Ingles, D., Abrahamsen, M., Pan, Y., Lazcano-Ponce, E., Salmeron, J. & Giuliano, A. R. (2016). Quadrivalent human papillomavirus (HPV) vaccine induces HPV-specific antibodies in the oral cavity: results from the mid-adult male vaccine trial. *Journal of Infectious Diseases*, *214*, 1276-1283.

- Quang, C., Chung, A. W., Frazer, I. H., Toh, Z. Q. & Licciardi, P. V. (2022). Single-dose HPV vaccine immunity: Is there a role for non-neutralizing antibodies?. *Trends in Immunology*, 43, 815-825.
- Radzki, D., Kusiak, A., Ordyniec-kwasnica, I. & Bondarczuk, A. (2022). Human papillomavirus and leukoplakia of the oral cavity: a systematic review. *Advances in Dermatology and Allergology*, 3, 594-600.
- Sasidharanpillai, S., Ravishankar, N., Kamath, V., Bhat, P. V., Bhatt, P. & Arunkumar, G. (2021). Prevalence of Human Papillomavirus (HPV) DNA among men with oropharyngeal and anogenital cancers: A systematic review and meta-analysis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 22(5), 1351-1364.
- Sendagorta-Cudós, E., Burgos-Cibrián, J. & Rodríguez-Iglesias, M. (2019). Genital infections due to the human papillomavirus. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 37(5), 324-334.
- Shapiro, G. K. (2022). HPV vaccination: An underused strategy for the prevention of cancer. *Current Oncology*, 29, 3780-3792.
- Syrjänen, S. (2018). Oral manifestations of human papillomavirus infections. *European Journal of Oral Sciences*, 126, 49-66.
- Toh, Z. Q., Kosasih, J., Russell, F. M., Garland, S. M., Mulholland, E. K. & Licciardi, P. V. (2019). Nonavalent vaccine against recombinant human papillomavirus in the prevention of cancers caused by human papillomavirus. *Infection and Drug Resistance*, 12, 1951-1967.
- Tsang, S. H., Sampson, J. N., Schussler, J., Porras, C., Wagner, S., Boland, J., Cortes, B., Lowy, D. R., Schiller, J. T., Schiffman, M., Kemp, T. J., Rodriguez, A. C., Quint, W., Gail, M. H., Pinto, L. A., Gonzalez, P., Hildesheim, A., Kreimer, A. R., Herrero, R. & Costa Rica HPV Vaccine Trial (CTV) Group (2020). Durability of cross-protection by different schedules of the bivalent HPV vaccine: The CVT trial. *Journal of the National Cancer Institute*, 112(10), 1030-1037.
- Tumban, E. (2019). A current update on human papillomavirus-associated head and neck cancers. *Viruses*, 11(10), 922.
- Yakin, M., Seo, B., Hussaini, H., Rich A. & Hunter, K. (2019). Human papillomavirus and oral and oropharyngeal carcinoma: the essentials. *Australian Dental Journal*, 64(1), 11-18.
- Yap, J., Slade, D., Goddard, H., Dawson, C., Ganesan, R., Velangi, S., Sahu, B., Kaur, B., Hughes, A. & Luesley, D. (2021). Sinecatechins ointment as a potential novel treatment for usual type vulval intraepithelial neoplasia: a single-centre double-blind randomised control study. *BJOG – International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 128(6), 1047-1055.
- Yazdani, Z., Rafiei, A., Valadan, R., Ashrafi, H., Pasandi, M. & Kardan, M. (2020). Designing a potent L1 protein-based HPV peptide vaccine: A bioinformatics approach. *Computational Biology and Chemistry*, 85, 107209.